Antitoxische Prozesse.

Von

Dr. C. Levaditi.

Mit 23 Abbildungen im Text.

Verlag von Gustav Fischer in Jena
1905.

Store
Health
Sciences
QV
600
LEV

The University Library
Leeds

Medical and Dental
Library

Die neutro ... **rankheiten.**
Von Dr. ... ied. Klinik am
Kgl. Jul ... leineren Blut-
bildtabel ...

Münchner ...
Die üb ... nen Merkpunkt
in der Geschi ... zählung bei den
Infektionskran ... Punkte ein, wo
die anderen ... chäftigt sich A.
ausschließlich ... Leukozyten. . . .
Die Lektür ... dringend zu
empfehlen.

Ehrlichs S ... **die künst-**
lichen ... tellung. Von
Mit 1 T ... f. in Göttingen.
Ausgabe ... Neudruck der

Der gegen ... ngel, Arzt in
... Pf.

Grundriss ... Dr. R. R. v.
dozent fü ... heck. Privat-
stiftung ... uses „Rudolf-
Auflag ... feln. Zweite
Freund ... on Dr. Ernst
„Rudolfs ... Krankenhauses
In K ...

Atlas der ... heim. Erste
(Die zwe ... I—XII. 1905.

Experimentelle Beiträge zur klinischen Pathologie des Blutes. Von Dr. **Paul Schmidt.** (Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.) Mit 4 lithogr. Tafeln. 1902. Preis: 3 Mark.

Soeben erschien:

Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut sowie anderer Eiweißsubstanzen und seine Anwendung in der forensischen Praxis. Ausgewählte Sammlung von Arbeiten und Gutachten. Von Prof. Dr. **Uhlenhuth**, Stabsarzt. 1905. Preis: 3 Mark.

Handbuch der Toxikologie. Von **A. J. Kunkel**, Prof. in Würzburg. 2 Bände. Preis: 24 Mark.

Therapeutische Monatshefte, Oktober 1899:

In diesem auf zwei Bände berechneten Werke handelt es sich nicht um eine Aufzählung aller mit und ohne Kritik beobachteten Symptome bei Vergiftungen des Menschen, sondern um eine Sichtung der auf Rechnung des eingeführten Gifts zu setzenden Erscheinungen, um den Aufbau des Vergiftungsbildes auf dieser Grundlage, an die sich dann Sektionsbefunde und Therapie schließen. Dies und die ausführliche Abhandlung der häufigsten Vergiftungen machen das Buch für den Praktiker wertvoll. Seine besondere Bedeutung liegt aber darin, daß der Verf. die Vergiftungssymptome durch die Ergebnisse der wissenschaftlichen Untersuchungen, der Tierexperimente und der unbeabsichtigten oder absichtlichen Versuche an Menschen in industriellen Betrieben zu erklären sucht; dabei gibt er des Interessanten so viel, daß das Buch von jedem Arzt, der sich weiter fortzubilden strebt und das ärztliche Wissen nicht allein aus der Beobachtung und Deutung seiner Fälle bestehen läßt, aber auch von jedem Theoretiker und Fachmann mit größtem Interesse gelesen werden wird. . . .

Stock
QU 600
LEV

30106 004077508

Antitoxische Prozesse.

Von

Dr. C. Levaditi.

Mit 23 Abbildungen im Text.

Verlag von Gustav Fischer in Jena
1905.

Alle Rechte vorbehalten.

605843

Vorwort.

Zwischen namhaften Forschern von hervorragender Kompetenz, wie Ehrlich, Arrhenius und Madsen, Nernst etc. ist seit einiger Zeit eine ebenso lebhafte, wie lehrreiche Diskussion über das Wesen und die Einzelheiten der sog. Antitoxinreaktionen im Gange, d. h. derjenigen Vorgänge, die sich abspielen, wenn ein Bakteriengift und sein spezifischer Antikörper in gegenseitige Wechselwirkung treten.

Wenn auch für die Mehrzahl der an solchen Untersuchungen Beteiligten kein Zweifel darüber zu bestehen scheint, daß der in Frage stehende Prozeß ein essentiell chemischer ist, tauchen die weitgehendsten Meinungsverschiedenheiten auf, sowie es sich um intimere Details handelt. Während für Ehrlich und seine Schule Gift und Gegengift ihre Verbindungen kraft einer starken gegenseitigen Affinität nach dem Gesetz der Multipla eingehen, ist nach Arrhenius und Madsen der Reaktionsverlauf durch den Prozeß der Salzbildung aus schwachen Basen und ebensolchen Säuren vorgezeichnet. Aus der Ehrlichschen Auffassung ergibt sich in notwendigen, durch zahlreiche experimentelle Tatsachen bestimmten Schlußfolgerungen die Ansicht, daß die Bakteriengifte eine komplexe Struktur besitzen, indem eine Diphtheriekultur z. B. neben dem echten Toxin noch Toxoide, Toxone, Epitoxonoide usw. enthalten kann. Dagegen erscheinen die Bakteriengifte in der von Arrhenius und Madsen gegebenen Vorstellung als ungemein einfach gebaute Körper und die Reaktionen, die sich zwischen ihnen abspielen, sind dann nur der spezielle Fall eines die physikalische Chemie beherrschenden Grundprinzips, des Guldberg-Wageschen Massenwirkungsgesetzes. Sie sind reversibel und mit einem Zustand labilen (chemischen) Gleichgewichts verbunden.

Nachdem der allererste heftige Kampfeseifer sich etwas gelegt hat und eine gewisse Ruhe zwischen den Lagern eingetreten

ist, scheint es angesichts der eminenten praktischen Wichtigkeit der Frage und ihres theoretischen Interesses nicht unberechtigt, die bisherigen Ergebnisse der Debatte und die Überlegungen, die sich bei der Lektüre einerseits, der Nachprüfung einiger Originalversuche andererseits aufdrängen, in eine kurze Abhandlung zusammenzufassen. Dabei ist das Bestreben maßgebend gewesen, nicht nur die Schlüsse aufzuzählen, zu denen jeder der Autoren sich berechtigt glaubt, sondern nach Möglichkeit die genauen Befunde wiederzugeben, die ihm dabei als Stützpunkt dienen. Auf diese Weise wird zwar die Lektüre des Ganzen etwas erschwert, auf der anderen Seite aber allen denjenigen, die eine persönliche exakte Vorstellung über die betreffenden Probleme gewinnen wollen, ihre Arbeit nicht unwesentlich vereinfacht.

Auch mußten die meisten auf die Toxinimmunität Bezug habenden Tatsachen allgemeinen Charakters angeführt werden, um auch dem weniger versierten Leser das Verständnis der auf dem Gebiete der Immunität zu bedenklicher Fülle angewachsenen Spezialausdrücke zu ermöglichen.

An gewissen Stellen des Textes erforderte die Kompliziertheit der Materie eine breitere Darstellung. Auch ließen sich die Wiederholungen des besseren Verständnisses wegen nicht immer vermeiden.

Besonderer Dank gebührt dem Übersetzer für das verständnisvolle Eingehen auf alle diese Gesichtspunkte, sowie dem Verlage des Herrn Gustav Fischer für die liebenswürdige Mühewaltung bei Herausgabe dieser Schrift.

Paris, April 1905.

C. Levaditi.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Vorwort III

I. Teil.

Komplexe Konstitution der Toxine.

I. Kapitel. Über die Wirkungsweise von Antitoxin auf Toxin 1

II. Kapitel. Die komplexe Konstitution der Toxine 13

III. Kapitel. Wertbestimmung antitoxischer Sera. Neutralisationskonstanten (L_0 und L_+) 17

IV. Kapitel. Die Konstituenten des Diphtheriegiftes: Toxine, Toxoide, Toxone 25

V. Kapitel. Die partielle Sättigung 37

VI. Kapitel. Die allgemeine Bedeutung der Toxoidhypothese 43

VII. Kapitel. Zusammenfassung 52

II. Teil.

Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin, nach den Anschauungen der physikalischen Chemie.

VIII. Kapitel. Allgemeines 57

IX. Kapitel. Die Reversibilität der Toxin-Antitoxinreaktion 63

a) Untersuchungen über Hämolyse 63

b) Die Umkehrbarkeit der Toxin-Antitoxinreaktion 65

1. Allgemeine Betrachtungen 65

2. Tetanolysin und Antitetanolysin 69

3. Diphtherietoxin und -antitoxin 75

4. Ricin-Antiricin 77

X. Kapitel. Die Schlußfolgerungen der physikalisch-chemischen Theorie . 83

XI. Kapitel. Schlußbetrachtung 87

Zusammenfassung 95

Erster Teil.

Komplexe Konstitution der Toxine.

Erstes Kapitel.

Über die Wirkungsweise von Antitoxin auf Toxin.

Kurze Zeit schon nach der Entdeckung der Antitoxine durch Behring und Kitasato tauchte die Frage auf, welcher Art die Einwirkung dieser Körper auf diejenigen Bakteriengifte sei, die jeweilig zu ihrer Herstellung gedient hatten. Die Münchner Schule mit Buchner an der Spitze und einige französische Forscher gelangten zu der Ansicht, daß das Antitoxin den empfänglichen Organismus vor der schädlichen Einwirkung des betreffenden Toxins dadurch schützt, daß es seine Zelle unempfindlich für den pathogenen Einfluß des Giftes macht. Diese Anschauung erwies sich, trotz ihrer großen Einfachheit, als wenig lebenskräftig. Experimentelle Tatsachen von seltener Beweiskraft, in der Mehrzahl aus dem Ehrlichschen Laboratorium stammend und bald von überallher bestätigt, wiesen darauf hin, daß der „Neutralisierung" der Giftwirkung durch Antitoxin eine direkte Einwirkung des letzteren auf das Toxin zugrunde liegt.

Der Fundamentalversuch, der für diese Denkungsweise ausschlaggebend war, ist der von Ehrlich[1]) mit dem Ricin und seinem Antikörper, dem Antiricin, angestellte. Bringt man in vitro Ricin mit abgetöteten*) roten Blutkörperchen zusammen, so tritt Agglutination der Erythrocyten ein. Setzt man dagegen dem System gleichzeitig eine genügende Menge Antiricin zu, so kann man das Auftreten der Agglutination vollständig verhindern.

Das Antiricin neutralisiert also den toxischen Effekt der Extrakte von Ricinus communis Zellen gegen-

*) Durch Aufschwemmen in einer Salzlösung, deren Konzentration von den Zellen nicht vertragen wird.

über, deren Vitalität gleich Null ist. Diese Tatsache gestattet den völligen Ausschluß jener Hypothese, nach welcher es sich um eine Beeinflussung der vitalen Funktionen der Zellen, ihres dynamischen Zustandes, durch den Antikörper handelt. In der Tat ließe sich gegen den Ehrlichschen Versuch nur einwenden, daß er als Versuch in vitro für die Vorgänge im lebenden Körper nicht definitiv beweisend sei. Aber Ehrlich konnte feststellen, daß bei Anwendung derselben Giftdosis die gleiche Menge Antiricin, die im Reagenzglase die Agglutination der roten Blutkörperchen hinderte, auch den Tierkörper vor Ricinvergiftung schützt.

Somit eröffnete dieser Versuch eine neue Aera, die des Studiums von Antigiften im Reagenzglase. Die vereinfachte Versuchsanordnung, die nur die drei notwendigen Faktoren: Gift, Gegengift und empfängliche Zelle, zu einander in Beziehungen treten läßt und der dadurch bedingte Ausschluß mannigfaltigster Störungen und Versuchsfehler, gestattete zu genauen sicheren Resultaten zu gelangen und in das Gebiet der Immunität, in das Studium rein biologischer Tatsachen, die Berechnung und Messung einzuführen.

Seit man gelernt hat, Antikörper des Schlangengifts (Phisalix, Calmette, Fraser)[2]), des Aalserums (Kossel[3]), Camus und Gley)[4]), des Abrins (Ehrlich)[5]), Crotins (Elfstrand)[6]), Arachnolysins (Sachs)[7]), Staphylolysins (Neißer und Wechsberg)[8]), Tetanolysins (Ehrlich und Madsen)[9]), Streptocolysins (Besredka)[10]) usw. herzustellen, d. h. Schutzkörper gegen Gifte, die in vitro Austritt des Hämoglobins aus Erythrocyten oder deren Agglutination herbeiführen, konnte der klassische Versuch Ehrlichs immer und immer wieder bestätigt werden. Allenthalben kam man zu dem Schluß, daß das im spezifischen Schutzserum enthaltene Gegengift die Agglutination und Hämolyse durch direkte Einwirkung auf das agglutinierende resp. hämolytische Agens verhindert, und daß der Zellkörper gewissermaßen eine nur passive und ganz sekundäre Rolle spielt.

Da nun aber in all diesen Versuchen stets Zellen in der Anordnung vorhanden sind und sogar ausnahmslos das einzige Kriterium der Antitoxinwirkung darstellen, so kann, wenn man den Zweifel auf die Spitze treiben will, die Frage entstehen, ob nicht zum Zustandekommen der hemmenden Wirkung von Antikörpern wenigstens die Anwesenheit korpuskulärer Elemente unumgängliche Bedingung sei. Dieser letzte Einwand wird mit dem Augenblick hinfällig, in dem es gelingt antitoxische Effekte in

Systemen zu erzielen, die nur gelöste Körper enthalten, in denen also ein, wenn auch indirektes, Eingreifen zellulärer Elemente ausgeschlossen ist. Wenn man im Reagenzglase Labferment[11]) oder Cynarase (Morgenroth)[12]) mit einer gewissen Menge Serum mischt, das von einem mit steigenden Dosen dieser Enzyme vorbehandelten Tier stammt, und der Mischung einige Kubikzentimeter Milch zusetzt, so sieht man, daß unter dem Einfluß des Antilabs resp. der Anticynarase die koagulierenden Fermente nicht mehr imstande sind, das Gerinnen der Milch herbeizuführen. Das gleiche gilt von Versuchen, in denen das Lab durch Urease (Moll)[13]), Emulsin (Hildebrandt)[14]), Pepsin (Sachs)[15]), Trypsin (Achalme)[16]), Kinase (Delezenne[17]), Ascoli und Bezzola)[18]) und das Antilab durch den betreffenden spezifischen Antikörper ersetzt ist.

Weiterhin genügt es, einigen Tropfen irgend einer eiweißhaltigen Lösung eine Spur präzipitierenden Serums (Koaguline, Präzipitine — Tchistowitch, Bordet), das durch Immunisierung von Tieren gegen die betreffende Eiweißart gewonnen wurde, zuzusetzen, um eine fast augenblickliche Trübung der Mischung hervorzurufen. Wenn man nach dem Vorgehen von Kraus[19]) das Filtrat einer Bouillonkultur von Cholera oder Typhus mit Anticholera- resp. Antityphusserum zusammenbringt, tritt unter dem fällenden Einfluß dieses Serums gleichfalls eine Niederschlagsbildung ein.

Das ist eine ganze Reihe der verschiedenartigsten Versuchsanordnungen, aus denen ohne weiteres ersichtlich ist: die Antikörper (Antilysine, Antifermente, Präzipitine), verhindern die hämolytische und fermentative Wirkung aktiver Substanzen oder verändern deren physikalische Eigenschaften; sie wirken in Medien, die gänzlich frei von geformten Bestandteilen sind und in denen sämtliche Faktoren des Systems sich im gelösten Zustand befinden. Woraus wiederum der Schluß gezogen werden muß, daß die Wirkung eines Antitoxins durchaus nicht an das Vorhandensein lebender Zellen gebunden ist und daß Antikörper die spezifischen Eigenschaften ihrer Antigene (Deutsch) modifizieren oder aufheben, indem sie diese letzteren direkt beeinflussen.

Es fragt sich nun, wie wir uns die Art und Weise dieser direkten Beeinflussung zu denken haben.

In der Hauptsache liegen zwei Möglichkeiten vor: entweder greift der Antikörper den Giftstoff so an, dass er ihn zerstört und in eine atoxische Modifikation überführt; oder das Antitoxin kombiniert sich mit dem Toxin,

ohne die Konstitution des letzteren zu beeinflussen, zu einer ungiftigen Verbindung. Nach letzterer Auffassung würde es sich also um eine „Neutralisierung" des Toxins durch Antitoxin handeln, ähnlich der Neutralisierung von Säuren durch Basen, oder, mit andern Worten um die Bildung eines neuen Körpers (Toxin + Antitoxin = inaktive Verbindung); wie aus Säure und Base ein neutrales Salz entsteht.

Diese beiden Hypothesen: Zerstörung des Giftstoffes einerseits, Neutralisierung durch den Antikörper anderseits, sind von einer Mehrzahl von Forschern auf ihre Haltbarkeit experimentell geprüft worden. Es ergab sich, um es gleich zu sagen, daß in einer unwirksamen Toxin-Antitoxinmischung weder die eine, noch die andere Komponente als „zerstört" betrachtet werden kann. Sie sind lediglich eine mehr oder minder stabile Verbindung miteinander eingegangen und haben einen neuen Körper gebildet, der weder toxische noch antitoxische Eigenschaften besitzt.

Wassermann[20]) behandelte z. B. eine inaktive Mischung von Pyocyanin und seinem Gegengift mit Temperaturen, die das Antitoxin zerstören, das Gift selbst aber intakt lassen, und konnte dann durch Versuche am Tierkörper das unzerstörte Toxin in solcher ursprünglich unwirksamen Mischung nachweisen. Wohlverstanden gelingt dieser Versuch nur, wenn man das Toxin-Antitoxingemisch sehr bald nach seiner Herstellung dem Erhitzen unterwirft, da, im entgegengesetzten Falle, die Verbindung der beiden Körper eine so innige wird, daß der thermische Einfluß nicht mehr imstande ist, sie zu sprengen. In einem unwirksamen Gemisch von Schlangengift und Schlangengiftimmunserum konnte ferner Calmette[21]) das Vorhandensein des ersteren in unverändertem Zustande nachweisen.

Besonders stützend aber für die Annahme, daß es sich bei der Entstehung unwirksamer Toxin-Antitoxingemische durchaus nicht um eine Zerstörung des Immunstoffes handeln kann, sind die Untersuchungen von Martin und Cherry[22]) und die Versuche von Danysz[23]).

Die beiden englischen Autoren, im besondern Martin[18]), stellten fest, daß, wenn man ein Gemisch zweier Körper A und B, die sich voneinander durch ihre Molekulargröße unterscheiden, durch eine poröse mit Gelatine imprägnierte Scheidewand filtrieren läßt, es gelingt A von B zu trennen. Vorausgesetzt, daß das Molekül von B kleiner ist als von A und außerdem winzig genug, um die Filtrierwandung zu passieren, enthält dann das Filtrat nur B. Von der Hypothese ausgehend, daß die Anti-

toxinmoleküle bedeutend größer seien, als die Toxinmoleküle*) und daß folglich letztere mehr Aussicht haben in das Filtrat überzugehen, unterwarfen die beiden genannten Untersucher ein neutrales Toxin-Antitoxingemisch unter hohem Druck ihrem Filtrierverfahren. Hier einige Details der klassischen Versuche, die sie in diesem Sinne anstellten.

Martin und Cherry bereiten drei verschiedene Mischungen von Schlangengift und Schlangengiftimmunserum, und so zwar, daß

a) 1 ccm von Mischung I 2 tödliche Giftdosen
b) 1 ccm „ „ II 3 „ „
c) 1 ccm „ „ III 4 „ „

frei enthält.

Die Konzentration des Giftes ist derart, daß wenn man Meerschweinchen je 1 ccm der obigen Gemenge injiziert, die Tiere bei

a) in 15 Stunden
b) „ 12 „
c) „ 9 „

eingehen.

Die Mischungen I bis III werden bei 20—23° für 2, 5, 10, 15 und 30 Minuten sich selbst überlassen und dann filtriert. Die Giftigkeit der Filtrate wird bestimmt, indem man sie Meerschweinchen subkutan injiziert. Nachstehende Tabelle, die einer v. Behring schen [24]) Publikation entlehnt ist, zeigt in übersichtlicher Weise die erhaltenen Resultate:

Tabelle I.

Dauer der Vorbehandlung bei 20—30°	Wirkung eines Kubikzentimeters Filtrat von Mischung		
	I	II	III
2′	≡	+ nach 20 Std.	+ nach 13 Std.
5′	=	+ nach 28 Std.	+ nach 15 Std.
10′	o	=	+ nach 23 Std.
15′	o	—	=
30′	o	o	o

≡ bedeutet: schwere Läsion; = mittelschwere; — leichte Läsion; — + Tod; o keine Wirkung.

*) Die Hypothese ist neuerdings von Arrhenius, Madsen und Walbum gestützt worden. Siehe weiter unten.

Diese Zusammenstellung zeigt in überaus deutlicher Weise, daß, wenn des Gemisch vor der Filtration 30 Minuten sich überlassen wurde, das Gift durch den Antikörper vollständig gebunden wird und das Filter nicht passiert. Dagegen geschieht dies wohl, wenn der Kontakt kürzer war, und zwar dringt desto mehr Gift ins Filtrat, je kürzer diese Zeit und je reicher das Gemisch an Giftstoff ist. Hieraus folgt, daß der Ablauf des chemischen Prozesses: Bindung des Toxins durch den Antikörper unter Bildung eines neuen ungiftigen Körpers mit größerem Molekül, eine gewisse Zeit erfordert, mit anderen Worten, daß die Schnelligkeit der Reaktion meßbar ist (30 Minuten in dem Falle von Martin und Cherry).

Nicht weniger instruktiv sind die jüngst veröffentlichten Untersuchungen von Danyzs über den Nachweis unveränderten Toxins in inaktiven Ricin-Antiricingemengen. Der Autor unterwirft Ricin, Antiricinserum und minimal-aktive Mischungen beider der verdauenden Einwirkung von Magensaft bei 40° 16 Stunden lang und konstatiert, entweder im Reagenzglasversuche (Agglutination roter Blutkörperchen) oder durch Injektionen an Meerschweinchen, daß das spezifische Antiserum durch den Verdauungsprozeß seiner neutralisierenden Eigenschaften ganz oder fast vollständig beraubt wird, daß dagegen das Toxin selbst lediglich eine Abschwächung erleidet. Das neutrale Gemisch wird nach der Einwirkung des Verdauungssaftes wieder agglutinierend und toxisch. Das proteolytische Ferment trennt also den Immunkörper vom Ricin, zerstört ihn und läßt das Gift, wenigstens zum größten Teil, in freiem Zustande zurück.

Alle diese Versuche zeigen auf deutlichste, daß es sich bei der Wechselwirkung zwischen Toxin und Antitoxin, deren Resultat die „Entgiftung" des ersteren ist, keineswegs um eine Zerstörung desselben handelt, da es auf diese oder jene Weise aus inaktiven Gemische wiedergewonnen werden kann.

Diese Tatsache ist von allergrößter Bedeutung und wird gegenwärtig von den weitaus meisten Autoren, die sich mit diesen Fragen beschäftigen (Gruber, Paltauf, Kraus, Wassermann etc.) in dem oben auseinandergesetzten Sinne bestätigt*).

Damit verlassen die Untersuchungen über das Wesen der Antitoxinwirkung das wenig exakte Gebiet der reinen Biologie

*) Siehe die Diskussion über Toxine auf dem Brüsseler Kongreß für Hygiene und Demographie 1903.

und wenden sich der quantitativ arbeitenden Chemie zu. Die Tatsache, daß Antitoxine mit ihren Antigenen zu neuen Verbindungen zusammentreten, ist der Ausdruck einer meßbaren Affinität im chemischen Sinne. Sie gestattet, den Gang der Antitoxinwirkung zu berechnen und zahlenmäßig dasjenige auszudrücken, was bis dahin Sache des persönlichen Eindrucks, der mehr oder minder vagen Schätzung gewesen war. Das ist ein ungeheurer Fortschritt, für dessen Verwirklichung allen daran Beteiligten nicht Anerkennung genug gezollt werden kann.

Ist somit die Mehrzahl der Autoren darüber einig, daß es sich bei den antitoxischen Vorgängen um eine direkte Wirkung des Antikörpers auf den Giftstoff handelt, die nicht mit einer Zerstörung dieses letzteren gleichbedeutend ist, so gehen über die Art dieser Einwirkung die Anschauungen auseinander. v. Behring und Ehrlich z. B. fassen sie ganz verschieden auf: während jener sich auf einen rein „dynamischen" Standpunkt stellt, neigt sich Ehrlich mehr auf Seite einer materielleren, chemischen Betrachtungsweise.

Für v. Behring[25]) sind Toxin und Antitoxin kolloidale Körper, Analoga von Metallkolloïden in Suspensionen. Jedes ihrer Massenteilchen besteht aus einem mit Energie beladenen Substrat (Somaton) und besitzt eine spezifische Affinität. Im Lösungsmittel, welches dazu dient, ihren Kontakt herbeizuführen (Konduktor), ziehen sich Toxin- und Antitoxinmolekül gegenseitig an und neutralisieren so ihre ungleichnamigen Energien, woraus dann die Inaktivität neutraler Toxin-Antitoxingemische resultiert.

Stellt man durch $\gtrless\underline{A}$ das Antitoxin, durch $t\underset{+}{<}$*) das Toxin und durch C den Konduktor, das Lösungsmittel, dar, so kann man die Wirkungsweise eines Gegengiftes durch folgendes Schema ausdrücken:

$$\gtrless\underline{A}\ t\underset{+}{<}\ \text{plus}\ C = (t\underset{+}{<}\gtrless\underline{A})\ C = (At)\ C.$$

Diese rein dynamische Auffassung des antitoxischen Vorgangs ist jedoch auf keine experimentell gestützte Tatsache gegründet, ist lediglich eine geistvolle Hypothese und kann als solche mit der Ehrlich'schen Theorie, die viel präziser gefaßt und auf eine große Anzahl sichergestellter experimenteller Ergebnisse gestützt ist, nicht konkurrieren.

*) + und — bedeuten die ungleichnamigen Energieformen von A und t; $\gtrless$ soll die chemische Affinität zum Ausdruck bringen.

Nach dieser Theorie neutralisiert das Antitoxin die schädigende Toxinwirkung, indem es sich mit ihm in ähnlicher Weise verbindet, wie z. B. Säure unter Bildung neutralen Salzes mit einer Base. »Ein Molekül Gift«, sagt Ehrlich, »bindet eine ganz bestimmte, unveränderliche Menge Antikörper« und führt dadurch zu einer neuen Verbindung, in der die beiden Komponenten ihrer ursprünglichen Eigenschaften beraubt sind[26]). Diese Vereinigung ist demnach ein rein chemischer Prozeß und als solcher, durch Änderung der Bedingungen, unter denen er vor sich geht, leicht in seinem Ablauf zu beeinflussen. Ohne diesen Punkt besonders betonen zu wollen, sei daran erinnert, daß nach Knorr[27]), v. Behring, Madsen und Arrhenius[28]), Ehrlich u. a. Konzentration, Temperatur, Salzgehalt des Milieus etc. etc, eine deutliche Rolle spielen. Alle physikalisch-chemischen Faktoren, welche die Bildung von Salzen fördern oder verzögern, scheinen im selben Sinne auch die Entstehung jener gesättigten, inaktiven Verbindung aus Toxin und Antitoxin zu beeinflussen.

Da es zur Stunde unmöglich ist, diese beiden Körper chemisch rein darzustellen und zu bestimmen, läßt sich der Gang der Antitoxinreaktion nur auf biologische Weise durch Bestimmungen der Wirksamkeit von Antitoxin-Toxingemischen in vivo und im Reagenzglase verfolgen. Die Anwendung dieser Untersuchungsmethode brachte Ehrlich zur Annahme zweier voneinander wohl unterschiedener Atomgruppen im Toxinmolekül, einer toxophoren und einer haptophoren, von denen die erste der eigentliche Träger der Giftwirkung ist, und an der von ihr angegriffenen Zelle diejenigen Veränderungen bewirkt, die in ihrer Summe die krankhaften Erscheinungen der betreffenden Vergiftung ausmachen; während die haptophore Gruppe ungiftig ist und lediglich der toxophoren ermöglichen soll, den Konnex mit den Geweben herzustellen (Fig. 1).

Fig. 1. *t* toxophore, *h* haptophore Gruppe.

Der Intoxikationsprozeß kann also nach Ehrlich folgendermaßen aufgefaßt werden: Die in den empfänglichen Organismus eingebrachten Toxinmoleküle fixieren sich mit ihren haptophoren Gruppen an denjenigen Zellrezeptoren, die für sie eine chemische Affinität besitzen, und vergiften, einmal verankert, die Zelle mit Hilfe der toxophoren Gruppe (Fig. 2).

Hier ist nicht der Ort um auf alle Einzelheiten der Ehrlichschen „Rezeptoren"- oder „Seitenketten"-Theorie einzugehen[29]).

Es sei nur ganz kurz erwähnt, daß nach der Anschauung Ehrlichs jede Zelle, deren Rezeptoren durch haptophore Gruppen von Toxinmolekülen besetzt sind, dadurch zur Neubildung solcher Rezeptoren angeregt wird, die mit einer Überproduktion und Abstoßung derselben in die Gewebsflüssigkeit, die Blut- und Lymphbahnen endet.

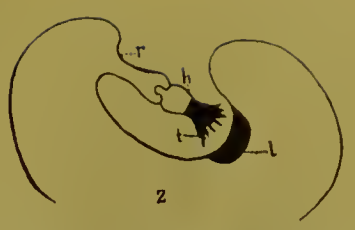


Fig. 2. *r* Rezeptor der Zelle *z*, *h* haptophore, *t* toxophore Gruppe des Toxinmoleküls, *l* die durch letsteres bedingte Läsion.

Diese überzähligen und ins Plasma abgestoßenen Rezeptoren sind eben „Antitoxine", d. h. Körper, die für die haptophore Gruppe des Toxinmoleküls eine spezifische, elektive Affinität besitzen. Führt man daher in den Körper eines gegen ein bestimmtes Toxin immunisierten Tieres eine mehrfach tödliche Dosis dieses Giftes ein, so werden die Toxinmoleküle von freien Rezeptoren in Beschlag genommen und verhindert die giftempfänglichen Zellen anzugreifen. Die Intoxikation kommt nicht zustande, das Tier ist „giftfest". Der chemische Mechanismus dieser Unschädlichmachung des Toxinmoleküls durch Antitoxin kann durch folgendes Schema veranschaulicht werden (Fig. 3):

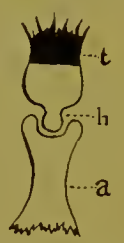


Fig. 3. *t* toxophore, *h* haptophore Gruppe eines Toxinmoleküls, *a* Antikörper (freier Rezeptor).

Nehmen wir, um den Grundgedanken der Ehrlichschen Theorie noch verständlicher zu machen, als Beispiel einige Versuche von Neißer und Wechsberg[30]) und Madsen[31]) mit Bakterienhämolysinen.

Das Tetanolysin, eines des Sekretionsprodukte des Nicolaierschen Bazillus, besitzt, nach obigem Schema, eine toxophore und eine haptophore Gruppe. Letztere ist es, die mit den Rezeptoren der roten Blutkörperchen sich verbindet und dann die toxophore Gruppe in Wirksamkeit treten läßt, die darin besteht, daß das Stroma der Blutzelle durchlässig für sein Hämoglobin wird und dieses in das umgebende Medium austritt (Hämolyse). Bringt man aber das Tetanolysin vorher mit einer ausreichenden Menge antilytischen Serums zusammen, so geht der darin enthaltene spezifische Antikörper eine intime Verbindung mit der haptophoren Gruppe des Giftmoleküls ein, wodurch die Hämolyse verhindert wird, da die toxophore

Fig. 4. *t* toxophore, *h* haptophore Gruppe eines Toxinmoleküls, *a* Antikörper, *r* fixer Zellrezeptor, *b* Zellleib.

Gruppe als solche vom Erythrocyten nicht absorbiert werden kann. Es hat also in diesem Falle das Antiserum die roten Blutkörperchen vor der Giftwirkung geschützt (Fig. 4).

Die Antitoxinwirkung ist demnach gegen die haptophore Gruppe des Toxinmoküls gerichtet und der Ausdruck der Affinität dieser Gruppe für die Antitoxinmoleküle, resp. freien Rezeptoren. (Das Verhältnis ist also durchaus dem von Base und Säure vergleichbar, deren Verbindung — das Salz — gleichfalls der Ausdruck ihrer gegenseitigen Affinität ist.) Aus der Größe dieser Affinität läßt sich auf die Intensität der Antitoxinwirkung schließen.

Die Existenz einer haptophoren Gruppe im Toxinmolekül, die unabhängig von der eigentlichen toxophoren wirkt und lediglich dazu dient, diese an die Gewebe resp. das Antitoxin zu verankern, ist durch viele experimentell begründete Tatsachen sehr wahrscheinlich gemacht. Es sei hier nur an die hervorragendsten unter ihnen erinnert.

Schon vor längerer Zeit versuchte Ehrlich in Gemeinschaft mit Benario[32]), Änderungen im Tetanustoxinmolekül durch Substitution mit Schwefelkohlenstoff zu erzielen. Er stellte damals fest, daß man durch dieses Verfahren Variationen des Ausgangsgiftes erhält, die zwar nicht toxisch wirken, aber in hohem Maße befähigt sind, bei ihrer Injektion in den Tierkörper (Maus) eine aktive Immunisierung desselben hervorzurufen. Anderseits erzielte Fraenkel[33])*) indem er Diphtheriegift erhitzte, atoxische Modifikationen desselben, die bedeutende immunisierende und antigene Eigenschaften hatten. Und O. Loew bemerkt, daß Toxalbumine unter gewissen Bedingungen in ungiftige Verbindungen übergehen, mit denen man Tiere immunisieren könne; letzteres sei in diesem Falle besonders leicht, da man viel größere Dosen (dieser quasi entgifteten Toxalbumine) injizieren kann.

Es ist ferner bekannt, daß eines der gebräuchlichsten Verfahren, welches gestattet, die Immunisierung von Tieren ohne Gefahr mit großen Toxindosen zu beginnen und so möglichst schnell zu hochwertigen Immunseris zu gelangen, darin besteht, das Toxin durch Zusatz von Jodtrichlorid (v. Behring), Lugolscher Lösung (Roux), Thymusextrakt (Brieger), Palladiumverbindungen (v. Behring[34]) usw. abzuschwächen.

---

*) Fraenkel unterscheidet im Toxin ein toxisches Prinzip, das bei einer Temperatur von 50—60° zerstört wird, und ein immunisatorisches, das unbedenklich bis 70° erhitzt werden kann.

Dies ist ein Beweis mehr dafür, daß die antigenen Eigenschaften der Bakteriensekrete unabhängig von ihrer Toxizität sind, da es gelingt, eine ausgesprochene Immunität mit Produkten zu erzielen, deren Giftigkeit entweder ganz minimal oder gleich Null ist. Diese Tatsachen bilden eine Stütze der oben ausgeführten Ehrlichschen Meinung, nach welcher die bloße Fixierung der (auch ungiftigen) Toxinmoleküle in den Geweben, zur Überproduktion und Abstoßung der überzähligen Rezeptoren ins zirkulierende Plasma (Antitoxinbildung) führt.

Wenn es richtig ist, daß nämlich von allen Konstituenten eines Toxinmoleküls es lediglich die haptophore Gruppe ist, die die Antitoxinbildung und die Verankerung von Toxin und Antitoxin veranlaßt, so muß man erwarten, daß die Injektion von abgesättigtem (neutralem) Toxin-Antitoxingemische keinerlei antigene Effekte nach sich zieht, da ja die mit Antitoxin besetzten haptophoren Gruppen des Giftmoleküls offenbar unfähig sind, von den Körperzellen gebunden zu werden, und so Anlaß zu einer Rezeptoren-Neubildung werden. Wie stellt sich das Experiment zu diesem Postulat der Theorie Ehrlichs?

Eine Reihe von Forschern, u. a. v. Dungern[35]), Sachs[36]), Rehns[37]), Nicolle[38]), Neisser und Lubowski[39]), Besredka[40]), Pfeiffer und Friedberger[41]) hat in dieser Richtung Untersuchungen angestellt, deren aller Endresultat, en bloc, das ist: die Injektion antigener Körper, deren haptophore Gruppen durch Antikörper vollständig besetzt sind, ruft im tierischen Organismus keinerlei Reaktion im Sinne einer aktiven Immunisierung desselben, oder des Auftretens spezifischer Eigenschaften in seinem Blutserum hervor.

Eine weitere wichtige Stütze für die Realität haptophorer Komplexe im Toxinmolekül liefert das intime Studium der Inkubation, jenes Charakteristikums der pathogenen Wirkung eines Bakteriengiftes. Wie die Versuche von Dönitz[42]), Heymans, Decroly[43]), Ronsse[44]), Morgenroth[45]) und Madsen[46]) zeigen, ist in der Tat die Inkubation nichts anderes, als der Zeitraum zwischen der Fixierung der haptophoren Gruppe an der Zelle und dem Moment, wo die toxophore anfängt, ihre verderbliche Tätigkeit zu entfalten.

Die bisher angeführten Tatsachen und theoretischen Überlegungen führen zu folgenden Schlüssen:

1) Die Wirkungsweise des Antitoxins dem Toxin gegenüber ist eine direkte.
2) Bei dieser direkten Einwirkung von Immunkörper auf Toxin handelt es sich nicht um eine Zer-

störung des letzteren, sondern um die Bildung einer — den Neutralsalzen analogen — Verbindung, unter Verlust der schädigenden, spezifischen Eigenschaften des Toxins.

3) Das Toxinmolekül ist nach Ehrlich durch zwei funktionell verschiedene Atomgruppen konstituiert, eine **toxophore**, die Trägerin der Giftigkeit des Moleküls, und eine **haptophore**, deren Funktion ist, die Verankerung desselben mit seinem Antikörper, oder dem anzugreifenden anatomischen Elemente zu bewerkstelligen.

Literatur.

1) Ehrlich, Fortschritte d. Med. 1897, Bd. XV, p. 41. — 2) Fraser, Brit. med. Journ. 1895, p. 416. — 3) Kossel, Berliner klin. Wochenschr. 1898, p. 152. — 4) Camus et Giey, Ann. Inst. Past. 1899, Bd. XIII, p. 779 und Arch. de Pharmacodyn. 1899, Bd. V, p. 247. — 5) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1891. — 6) Elfstrand, Görbersdorfer Veröffentl., Stuttgart 1898. — 7) Sachs, Hofmeisters Beiträge 1903. — 8) Neißer u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXII, p. 311. — 9) Madsen, Zeitschr. f. Hyg. 1899, Bd. XXXII, p. 214. — 10) Besredka, Ann. Inst. Pasteur 1903. — 11) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. 1899, Bd. XXVI, No. 11 u. 12. — 12) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. 1900, Bd. XXVII, No. 20/21. — 13) Moll, Hofmeisters Beiträge, 1902, Bd. II. — 14) Hildebrandt, Virch. Archiv 1893, Bd. CXXXI, p. 5. — 15) Sachs, Fortschr. d. Med. 1902, Bd. XX, p. 425. — 16) Achalme, Ann. Inst. Pasteur 1902, p. 737. — 17) Delczenne, Compt. Rend. Soc. de Biolog. 1903. — 18) Ascoli u. Bezzola, Centralbl. f. Bakt. 1903, Bd. XXXIII, No. 10 und Berliner klin. Wochenschr. 1903, No. 17. — 19) Kraus, in Kolle u. Wassermann: Präzipitine. — 20) Wassermann, Zeitschrift f. Hyg., Bd. XXII, p. 211. — 21) Calmette, Ann. Inst. Pasteur 1895, p. 225. — 22) Martin u. Cherry, Brit. med. Journ. 1898, p. 1120. — 23) Danysz, Ann. Inst. Pasteur 1902, T. XVI, p. 231. — 24) v. Behring, Beiträge zur experim. Therapie, H. 7. — 25) Behring, siehe 24. — 26) Ehrlich, Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums. Klin. Jahrb., Bd. VI, H. 2, p. 297. — 27) Knorr, Habilitationsschrift, Marburg 1895. — 28) Arrhenius u. Madsen, siehe unten. — 29) Seitenkettentheorie: Aschoff, Zeitschr. f. allg. Physiol. 1902, Bd. I, H. 3; Ehrlich u. Morgenroth, in Handb. d. pathog. Mikroorg. (Kolle u. Wassermann), H. 20, p. 430; Levaditi, Presse médicale 1901 (November) und 1901 (August). — 30) Neisser u. Wechsberg, siehe 8. — 31) Madsen, siehe 9. — 32) Ehrlich u. Benario, Zeitschr. f. Hyg., Bd. XVIII. — 33) Fraenkel, Chem. Centralbl. 1891, Bd. I, p. 102. — 34) v. Behring, siehe 24. — 35) v. Dungern, Münchener med. Wochenschr. 1900, No. 20—28. — 36) Sachs, Centralbl. f. Bakt. 1901, Bd. XXX, p. 491. — 37) Rehns, Compt. Rend. Soc. Biolog. 1901. — 38) Nicolle, Compt. Rend. Soc. Biolog. 1902 u. Ann. Inst. Pasteur 1904. — 39) Neißer u. Lubowski, Centralbl. f. Bakt. 1901, Bd. XXX, p. 483. — 40) Besredka, Ann. Inst. Pasteur 1903. — 41) Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. 1903. — 42) Dönitz, Arch. de Pharmacodyn. 1899, Bd. V, p. 425. — 43) Decroly, Arch. de Pharmacodyn. 1897, Bd. III, p. 61. — 44) Decroly u. Ronsse, Arch. de Pharmacodyn. 1899, Bd. VI, p. 211. — 45) Morgenroth, Arch. de Pharmacodyn. 1900, Bd. VII, p. 265. — 46) Madsen, siehe 9.

Zweites Kapitel:

Die komplexe Konstitution der Toxine.

Die Schlußfolgerungen, zu denen die im vorigen Kapitel behandelten Tatsachen führen, dienten als Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen, betreffend die Konstitution des Toxinmoleküls und den Gang der chemischen Wechselwirkungen zwischen Bakteriengiften und ihren Antikörpern. Im Verlaufe dieser Untersuchungen ist nun zwischen Ehrlich und seiner Schule einerseits, Arrhenius und Madsen, Gruber, Bordet etc. andererseits, eine Differenz der Gesichtspunkte entstanden, die zu einer äußerst interessanten und anregenden Diskussion geführt hat. Der Kernpunkt derselben ist die Frage, wie der Chemismus jener neutralisierenden Antitoxinwirkung aufzufassen sei. Die Art, wie dies geschieht, ist nicht unwesentlich; denn nimmt man, mit Ehrlich, an, daß sich Gift und Gegengift zu einander wie starke Säuren zu Basen verhalten und das Gesetz der Multipla befolgen, so wird man in letzter Linie gezwungen, den Bakteriensekreten eine komplexe Konstitution zuzuerkennen. Während die Arrhenius-Madsensche Auffassung den fraglichen Vorgang als Analogon der Reaktionen zwischen schwachen Säuren und Basen, umgekehrt Toxin und Antitoxin als äußerst einfach gebaute Körper erscheinen läßt.

A priori ist es wahrscheinlich, daß die Sekrete der Spaltpilze, ebenso wie die von tierischen oder Pflanzenzellen, sehr komplizierte Verbindungen darstellen. Die Zahl der in der Chinarinde oder im Opium enthaltenen Alkaloïde beläuft sich auf 20 und mehr (Ehrlich)[1]), die Leberzelle sezerniert mehr als zehn verschiedene Verdauungsfermente (Hofmeister)[2]) und ungefähr das gleiche gilt von der Bierhefe z. B. Es wäre höchst sonderbar, wenn die Bakterienzelle sich in dieser Hinsicht ganz anders verhielte und stets nur ein und dasselbe toxische Prinzip in ihre Umgebung ausschiede. Tatsächlich lehrt auch die Erfahrung, daß

es mehrere Toxine und Toxalbumine gibt, die sich in verschiedene, gut bestimmbare Konstituenten zerlegen lassen.

Für das Tetanusgift z. B. haben Ehrlich und Madsen[3]) schon vor längerer Zeit gezeigt, daß Filtrate oder Bouillonkulturen nicht nur tetanisierend, sondern auch deutlich hämolytisch wirken. Diese beiden Eigenschaften sind nicht etwa, wie man glauben könnte, an dasselbe Prinzip gebunden, sondern durch zwei deutlich unterscheidbare Substanzen bedingt: Tetanospasmin und Tetanolysin. Folgende Überlegungen beweisen dies: Nicht alle Kulturen des Nicolaierschen Bazillus haben das gleiche spastische und hämolytische Vermögen: gewöhnlich geht dieses in älteren Kulturen verloren, während jenes erhalten bleibt. Also muß das Tetanusgift mindestens zwei Arten toxophorer Gruppen enthalten mit qualitativ verschiedener Toxizität. Fraglich ist nun, ob jeder von ihnen eine besondere „haphtophore Gruppe" entspricht oder nicht, mit andern Worten, ob Spasmin und Lysin in verschiedenen, mit gesonderten haptophoren Apparaten versehenen Molekülen auftreten. Daß letzteres der Fall ist, geht aus Versuchen von Ehrlich und Madsen hervor, denen es durch Fixation in vitro gelang, das Tetanolysin allein von sensiblen Erythrocyten absorbieren zu lassen, während das krampferregende Prinzip völlig intakt blieb; fernerhin noch daraus, daß es gewisse spezifische Antisera gibt, die nur antitoxisch, keineswegs aber antihämolytisch wirken und vice versa; was nicht anders zu deuten ist, als durch die Annahme zweier verschiedener Antikörper in dem betreffenden Serum: eines Antispasmins und Antilysins.

Des weiteren haben Neißer und Wechsberg[4]) im Laufe einer äußerst minutiösen Analyse der Stoffwechselprodukte von Staphylococcus aureus in demselben zwei verschiedene Gifte aufgedeckt: das schon von Lingelsheim[5]) und Kraus[6]) beschriebene Hämolysin (Staphylolysin) und das von Van de Velde[7]) entdeckte Leukocidin. Nicht nur wirkt jeder dieser Körper elektiv auf Erythrocyten resp. weiße Blutkörperchen, sondern er hat auch eine besonders haptophore Gruppe, da das hämolytische Prinzip stets nur von den roten Blutzellen, das leukotoxische von den weißen absorbiert wird.

Diesen Reagenzglasversuchen gliedern sich Beobachtungen im Tierexperiment an, die zeigen, daß ein und dasselbe Bakteriensekret mehrere Toxine enthalten kann, die in ganz verschiedener Weise den Organismus beeinflussen. So beschreibt z. B. Tizzoni[8]) ein Tetanustoxin, das den Tod seiner Versuchstiere unter den

Symptomen einer chronischen Vergiftung*) herbeiführte. Nach Ehrlichs Ansicht handelt es sich in diesem Falle um die spezifische Wirkung eines Körpers, der sich oft in Bouillonkulturen von Bac. tetani neben Tetanospasmin und Tetanolysin vorfindet. Aus einer Beobachtung v. Behrings und Tizzonis geht hervor, daß Tetanusstämme verschiedener Herkunft Toxine erzeugen können, deren indirekte Toxizität**) für die Maus in allen Fällen die gleiche ist, während sie sich Kaninchen gegenüber verschieden verhalten. Ehrlich erklärt dies durch die Existenz von mindestens zwei Varianten des Tetanospasmins in solchen Kulturen. Alles Beweise, daß die pluralistische Anschauung in bezug auf die in Bakteriensekreten enthaltenen Gifte mit den experimentellen Erfahrungen aufs beste übereinstimmt.

Ganz ähnlich verhalten sich die Toxalbumine vegetabilen und animalen Urspruges. Die Methode der spezifischen (fraktionierten) Absorption, die Ehrlich bei seinen Hämolysinversuchen angewendet hatte, gestattete Flexner und Noguchi[9]), zu zeigen, daß das Kobragift mindestens vier verschiedene Gifte enthält: ein Endotheliotoxin, ein Hämolysin, ein Neurotoxin und schließlich ein Leukocidin. Im Ricin unterscheidet Jacoby[10]) ein Agglutinin von dem eigentlich toxisch wirkenden Körper: Das Ricinmolekül hat zwei toxophore Gruppen, deren Fixierung durch eine gemeinschaftliche haptophore Gruppe garantiert wird.

Aprioristische Erwägungen und experimentelle Tatsachen weisen also in durchaus eindeutiger Weise darauf hin, daß gewisse bakterielle, pflanzliche und tierische Gifte äußerst komplizierter Natur sind. Jedes Zellelement, gleichgültig woher es stammt, sezerniert während seiner physiologischen Aktivität nicht ein Prinzip, sondern mehrere, oft eine ganze Reihe von Verbindungen, die sich voneinander sowohl durch ihre Molekularstruktur, als auch ihre spezifischen Eigenschaften unterscheiden. Letztere können wir dadurch aufdecken, daß wir die betreffenden Verbindungen auf ihr hämolytisches, agglutinierendes, präzipitierendes und toxisches Verhalten hin prüfen. Danach erscheint ein Zweifel über die komplexe Natur der Sekretionsprodukte bakteriellen, tierischen oder pflanzlichen Ursprungs nicht mehr gut möglich.

Zwar haben einige Forscher sich zu dem Einwurf berechtigt geglaubt, daß der Schluß, jeder spezifischen Wirkung

---

*) Ohne eine Spur tetanischer Erscheinungen.

**) Siehe weiter unten.

entspräche ein besonderer Körper im chemischen Sinne, ein durchaus irriger sei. Darauf kann man nur antworten, daß jene Methode der spezifischen Absorption mehr als einmal gestattet hat, solche Körper zu isolieren; ein komplexes Bakteriengift gewisser Eigenschaften zu berauben, während andere intakt blieben.

Die eben auseinandergesetzte Anschauung findet eine hervorragende Stütze in den Arbeiten Ehrlichs und seiner Schüler über die beiden am besten und vollständigsten bekannten Bakteriengifte: das Tetanus- und das Diphtherietoxin; ihre eingehende Darstellung bildet den Inhalt des nächsten Kapitels. Und da zu ihrem Verständnis einige Kentnisse über die Wertbestimmung aktiver Sera unumgänglich sind, wird ein Teil des Abschnittes auch davon handeln.

Literatur.

1) Ehrlich, Reprentes from the University Record 1904, Vol. IX, No. 1. — 2) Hofmeister, Die chemische Organisation der Zelle, Braunschweig 1901, Vieweg & Sohn. — 3) Madsen, siehe Kap. I, 9. — 4) Neisser u. Wechsberg, siehe Kap. I, 6. — 5) Lingelsheim, Ätiologie und Therapie der Staphylokokkeninfektionen, Berlin 1900. — 6) Kraus, Wiener klin. Wochenschr. 1900, No. 3. — 7) Van de Welde, La cellule, T. X, fasc. 2. — 8) Tizzoni, zitiert nach Ehrlich, Berliner klin. Wochenschr. 1903, No. 35—37. — 9) Flexner u. Noguchi, Journ. of experim. med. 1902, Vol. VI. — 10) Jakoby, Hofmeisters Beitr. 1901, Bd. I, p. 51.

Drittes Kapitel.

Wertbestimmung antitoxischer Sera. Neutralisationskonstanten (L_0 und L_+).

Vor einigen Jahren sahen sich Ehrlich und seine Mitarbeiter vor die Aufgabe gestellt, eine gleichzeitig genaue und praktische Methode für die Bestimmung des „antitoxischen" Wertes spezifischer Sera, insbesondere des antitetanischen und des Diphtherie-Heilserums auszuarbeiten. Die Frage nach einer solchen Methode war damals an der Tagesordnung, denn in mehreren Ländern, besonders in England und Dänemark, hatte man mit der Serotherapie wenig aufmunternde Erfahrungen gemacht, die lediglich der Anwendung zu schwacher Sera, deren antitoxischer Effekt mangels geeigneter Methodik nicht vorausbestimmt werden konnte, zuzuschreiben sind. Die nach dieser Richtung geleiteten Untersuchungen der obenerwähnten Forscher haben zu ganz neuen Aufklärungen über die Konstitution der Toxine im allgemeinen und die Komplexität des Diphtheriegiftes im besonderen geführt, die in einer ausführlichen Monographie niedergelegt sind[1]).

Um jederzeit eine Maßeinheit zur Verfügung zu haben, nach welcher das antitoxische Vermögen beispielsweise eines Diphtherieserums bestimmt werden könnte, war es vor allem notwendig, als Ausgangspunkt entweder ein Toxin oder ein Antitoxin zu wählen, dessen Wirkungsweise weder qualitativ noch quantitativ im Laufe der Zeit sich ändert. Einschlägige Versuche zeigten nun sehr bald, daß Diphtherietoxin, selbst wenn man es sorgfältigst vor Licht, Luft und Feuchtigkeit schützt, sich rasch abschwächt; daß dagegen Antitoxin im Vakuum getrocknet und in besonderen Röhren in Gegenwart von Phosphorsäureanhydrid aufbewahrt, lange Zeit hindurch unverändert bleibt. Hieraus ergibt sich der einzuschlagende Weg von selbst: man muß offenbar zur Wertbestimmung irgend eines Diphtherieantiserums nicht das Toxin heranziehen, sondern sein Neutralisationsvermögen mit dem eines

ein für allemal als Maßstab angenommenen „Test"-Serums vergleichen.

Dies im Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. angewandte Verfahren rechnet mit zwei Maßeinheiten: der tödlichen Giftdosis (DL) und der Immunitätseinheit (IE). DL ist diejenige Menge Diphtherietoxin, die ein Meerschweinchen von 250–300 g Gewicht bei subkutaner Injektion in 3—4 Tagen tötet.

IE ist diejenige kleinste Menge Antitoxin, die — in vitro — 100 DL (eines von Ehrlich benutzten Diphtheriegiftes) zugesetzt, ein mit der Mischung injiziertes Meerschweinchen von 250—300 g vor der tödlichen Intoxikation schützt.

Ein Normalserum ist ein Serum, das in 1 ccm eine IE (Immunitätseinheit) enthält*).

Das — getrocknete — Testserum des Frankfurter Instituts ist 1700fach, d. h. es enthält 1700 IE im Kubikzentimeter (des flüssigen Serums).

Um den Antitoxingehalt eines gegebenen Serums schätzungsweise zu bestimmen, verfährt man auf folgende Weise: 2 Gramm des trockenen Standardserums werden in 200 ccm einer 10 proz. NaCl-Lösung in 50—80% Glyzerin aufgelöst. Da 100 ccm dieser Verdünnung 1700 IE enthalten, so enthält 1 ccm 17 IE, d. h. die Lösung des Testserums entspricht einem 17fachen Normalserum. Ein Kubikzentimeter einer 17fachen Verdünnung derselben enthält also gerade 1 IE.

Es sei mit t dasjenige Diphtherietoxin bezeichnet, das man gerade zur Verfügung hat. Man sucht nun vor allem diejenige Menge x dieses Toxins zu bestimmen, die, einem Meerschweinchen zusammen mit 1 IE (s. o.) subkutan injiziert, das Tier in 4 Tagen tötet. Angenommen, für das gegebene Gift (t) sei $x = 0{,}355$ ccm gefunden worden. Erwartet man, daß das zu prüfende Serum S beispielsweise ein 400faches ist, so stellt man davon eine Verdünnung von $^1/_{400}$ her, fügt zu 1 ccm dieser Verdünnung die gefundene Toxinmenge x (also 0,355) hinzu und impft damit ein Meerschweinchen. Stirbt das Tier nach 3 bis 4 Tagen, so kann man daraus schließen, daß die vorausgesetzte Wertigkeit der Wirklichkeit entspricht. Bleibt es aber am Leben, so enthielt offenbar der hinzugefügte 1 ccm Antitoxin mehr als eine

*) Alle zur Injektion gelangenden Flüssigkeiten werden durch Verdünnen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 4 ccm gebracht.

I E und die Schutzkraft des Serums ist eine höhere, als angenommen.

Dieses höchst einfache und verhältnismäßig billige Verfahren gestattet Antitoxinbestimmungen mit einer Genauigkeit bis 5 % auszuführen. Man benötigt nur ein unveränderliches Testserum, dessen Wert bekannt ist und als tertium comparationis irgend ein Diphtheriegift, dessen absolute Aktivität ja offenbar keine Rolle spielt.

So viel über die praktische Seite der Serumprüfung. Die nicht minder beachtenswerte theoretische muß etwas ausführlicher behandelt werden, da ihre Erörterung uns in den Stand setzt, das Wesen und den Verlauf einer Antitoxinreaktion im einzelnen zu verfolgen.

Injiziert man Meerschweinchen, wie dies eben auseinandergesetzt wurde, Gemische, die aus 1 IE spezifischen Serums in Verbindung mit steigenden Dosen eines wirksamen Toxins bestehen, so gelangt man zu zwei Grenzwerten, deren einer durch das völlige Gesundbleiben, der andere durch den Tod des Tieres nach 3 bis 4 Tagen bestimmt wird. Z. B.:

Tabelle II.

1 IE + Toxin in ccm	No.	Wirkung auf Meerschw. von 200—300 g	Limes
0,285	1	0	
0,295	2	0	L_0
0,305	3	—	
0,315	4	—	
0,325	5	=	
0,335	6	≡	
0,345	7	+ in 7 Tagen	
0,355	8	+ „ 4 „	$L+$

Für des untersuchte Gift ist also der obere Grenzwert, der mit L_0 **(Limes „Null")** bezeichnet wird = 0,295, d. h. 0,295 ccm des Giftes bleiben, wenn ihnen vor der Injektion 1 IE Antitoxin zugesetzt wird, ohne Wirkung. Andererseits ist die Menge von 0,355 ccm Toxin in Verbindung mit einer IE in 4 Tagen tödlich. Der zweite Grenzwert, $L+$ **(Limes „Tod")**, beträgt demnach 0,355.

Spricht man also von einem L_0-Gemisch, so bedeutet dies eine Toxin-Antitoxinkombination, bei der sämtliche Giftäquivalente durch die Valenzen der einen IE gebunden sind, so daß dieses „neutrale" Gemisch keine Wirkung auslöst. $L+$ stellt dagegen ein Gemisch von

einer bestimmten Menge Antitoxin (1 IE) mit so viel Toxin dar, daß, nach Bindung sämtlicher Affinitäten der ersteren, noch gerade eine tödliche Giftdosis (DL) frei vorhanden ist. In der Tat gehen Tiere, die mit einer solchen L_+-Mischung geimpft werden, nach 3—4 Tagen ein — genau so, als hätten sie eine tödliche Dosis des reinen Toxins injiziert bekommen.

Vergleichende Untersuchungen über diese Grenzwerte oder Neutralisationskonstanten sind es nun gewesen, die Ehrlich zu der Ansicht gebracht haben, daß das Diphtherietoxin kein einheitliches Gift, sondern ein Stoff von komplexer Konstitution ist. Eine eingehende Prüfung der Versuchsresultate, die sich bei Behandlung empfänglicher Tiere mit verschieden komponierten Toxin-Antitoxingemischen heraustellen, auf der einen Seite, und exakte Bestimmungen des Bindungswertes alter, abgeschwächter Toxine für Antitoxin auf der anderen, ergeben nämlich Tatsachen, die mit der Annahme, daß die Antitoxinreaktionen dem Gesetz der Multipla unterworfen sind, keineswegs übereinstimmen.

Diese Tatsachen lassen sich auf zwei Kardinalpunkte zurückführen, die wir als Ehrlichsche Paradoxa bezeichnen dürfen, da dieser als erster auf sie aufmerksam gemacht und ihre Wichtigkeit für die gesamte Toxinfrage betont hat.

I.

Wenn es richtig ist, daß die Bakteriengifte sich mit ihren Antikörpern nach dem Gesetz der Multipla verbinden, so daß, wenn ein Teil Toxin ein Teil Antitoxin bindet, n-Toxin zur vollständigen Sättigung n-Antitoxin benötigen, so muß der Zusatz einer tödlichen Giftdosis zu L_0, wo, nach der gegebenen Begriffsbestimmung, sämtliche Antitoxinäquivalente durch Toxin gebunden sind, genügen, um ein einfach toxisches Gemisch — id est L_+ — zu erhalten. Es müßte, anders ausgedrückt,

$$L_+ - L_0 = 1 \text{ DL}$$

sein. Es stellt sich aber heraus, daß dies in Wirklichkeit nicht der Fall ist, daß vielmehr die Differenz zwischen den Giftmengen L_0 und L_+, die mit **D** bezeichnet sei, stets mehr als die einfache Dosis des betreffenden reinen Toxins beträgt ($L_+ - L_0 = D > 1$ DL).

Folgende Tabelle mehrerer mit verschiedenen Toxinen angestellter Bestimmungen macht dies außerordentlich anschaulich:

Tabelle III.

Toxin No.:	I. DL = 0,07		II. DL = 0,03		III. DL = 0,0125		IV. DL = 0,009		V. DL = 0,02	
	Vol.	Zahl der tödlich. Dosen	Vol.	Zahl der tödlich. Dosen	Vol.	Zahl der tödlich. Dosen	Vol.	Zahl der tödlich. Dosen	Vol.	Zahl der tödlich. Dosen
L+	2,8	40	1,25	42	0,48	39	0,355	39,4	1,15	57,5
L_0	2,3	33	0,95	32	0,415	33,2	0,305	33,4	0,95	47,5
D	0,5	7	0,3	10	0,065	5,8	0,05	6	0,2	10

Toxin No.:	VI. DL = 0,027		VII. DL = 0,0165		VIII. DL = 0,014		IX. DL = 0,001	
	Vol.	Zahl der tödlichen Dosen	Vol.	Zahl der tödlichen Dosen	Vol.	Zahl der tödlichen Dosen	Vol.	Zahl der tödlichen Dosen
L+	3,05	113	1,26	76,3	0,59	42	0,0292	29,2
L_0	2,6	96	0,9	54,4	0,5	35,7	0,0275	27,5
D	0,45	17	0,36	22	0,09	6,3	0,0017	1,7

(Der Toxingehalt von L+ und L_0 ist für jedes Toxin sowohl in Kubikzentimetern [Spalte: Vol.] als auch in tödlichen Dosen [DL] ausgedrückt. D zeigt die jeweilige Differenz.)

Die Werte für D schwanken demnach zwischen 1,7 und 22 DL (in andern Versuchen bis 50(!) DL). Also ist, um von L_0 zu L+ zu gelangen, ersterer Mischung ganz erheblich mehr als die einfach tötliche Giftdosis zuzusetzen.

II.

Eine weitere Beobachtung, die dem Gesetz der Multipla scheinbar widerspricht, ist folgende:

Bekanntermaßen büßt jedes Diphtheriegift mit der Zeit an Wirksamkeit ein. Selbst bei sorgfältigster Behandlung sinkt der Gehalt au tödtlichen Dosen in der Volumeinheit unaufhaltsam bis zu einem gewissen Punkte, auf dem er sich dann konstant hält. Verfolgt man nun parallel mit diesem Sinken der Toxizität das Absättigungsvermögen des betreffenden Giftes gegenüber seinem Antitoxin, so wie es bei der Wertbestimmung von L+ und L_0 geschieht, so stellt sich heraus, daß dieses Absättigungsvermögen unverändert fortbestehen kann, auch wenn die Giftigkeit sehr beträchtlich geringer geworden ist. Nachstehendes Beispiel, das einer Ehrlichschen Arbeit entlehnt ist, zeigt dies auf das deutlichste:

Diphtherietoxin Nr. 4 (Marke „braun“) hatte zur Zeit seiner Herstellung einen Giftigkeitswert von 0,003 ccm als einfach tödliche Dosis. Dagegen tötete es nach 9 Monaten ein Meerschweinchen von 250 g erst in einer Dosis von 0,009 ccm. D. h., anfänglich enthielt 1 ccm 330 DL, nach dem angegebenen Zeitraum nur noch etwa 110. Ungeachtet dieser deutlichen Abschwächung blieb das Absättigungsvermögen gegenüber einem bestimmten Antitoxin fast das gleiche, da die Werte für L_0 nur zwischen 0,310 und 0,305 ccm schwankten.

Tabelle IV.

	Frisches Toxin	Altes Toxin
DL	0,003	0,009
L_0	0,310	0,305

Diese Erscheinung, der man bei der Wertbestimmung älterer Diphtherietoxine fast unausgesetzt begegnet, beschränkt sich nicht etwa auf dieses eine Bakteriengift. Auch das Tetanustoxin und das Tetanolysin verhalten sich in ähnlicher Weise. v. Behring[2]) z. B. hat an einem gegebenen Tetanustoxin von Juli 1899 bis Juni 1903 die indirekte (+ms) und die direkte (+MS)*) Giftigkeit verfolgt. Nachstehende Tabelle zeigt nun die Schwankungen von +ms und +MS während der erwähnten langen Beobachtungsperiode.

1) Frische Kultur von 1897—99.	1 ccm Kultur enthält	2 000 000 +ms 2 000 000 +Ms
2) Juli 1899.	1 „ „ „	2 000 000 +ms 300 000 +Ms
3) Juli 1901.	1 „ „ „	1 900 000 +ms 100 000 +Ms
4) Juli 1902.	1 „ „ „	1 740 000 +ms 7 500 +Ms
5) Januar 1903.	1 „ „ „	1 640 000 +ms 7 500 +Ms
6) Juni 1903.	1 „ „ „	1 000 000 +ms 5 000 +Ms

Während also die Toxizität dieses Giftes im Laufe von 6 Jahren bis auf $^1/_{400}$ des Anfangswertes gesunken war, verringerte sich sein Bindungsvermögen für Antitoxin nur etwa um die Hälfte.

*) Die „indirekte“ Giftigkeit von Behring entspricht mehr oder minder dem L+ Ehrlichs, da sie diejenige Toxinmenge ausdrückt, die mit $^1/_{1000}$ IE eine für Mäuse in 4—5 Tagen tödliche Mischung gibt. Die „direkte“ Giftigkeit ist dem DL beim Diphtheriegift gleichbedeutend.

Untersuchungen von Arrhenius und Madsen an Tetanolysin[3]) haben zu ganz analogen Befunden geführt.

Immerhin scheint das Phänomen nicht bei allen Bakteriengiften in gleicher Weise aufzutreten. Wenigstens berichten Graßberger und Schattenfroh[4]), daß Rauschbrandtoxin das spezifische Immunserum immer im Verhältnis zu seiner, des Toxins, absoluten Giftigkeit neutralisiere, so daß ein abgeschwächtes Gift auch weniger Antikörper zu seiner Absättigung benötige, als das frische Toxin.

Die eingehende Analyse dieser Tatsachen gestattet das Wesentliche daran so zu fassen:

1) Die Toxinmenge, die einem neutralen Toxin-Antitoxingemisch hinzugesetzt werden muß, um eine einfach tödliche Kombination zu erhalten, ist stets größer, als die kleinste tödliche Dosis des reinen Toxins.

2) Die Toxizität eines Bakteriengiftes kann mit der Zeit stark sinken, ohne daß sich sein Bindungsvermögen für den Antikörper wesentlich ändert.

Es ist ohne weiteres klar, daß diese beiden Sätze mit der Annahme, der Bindungsvorgang zwischen Gift und Gegengift folge dem Proportionalitätsgesetz, unvereinbar sind.

Dieses Gesetz verlangt, daß eine bestimmte Menge Antitoxin immer und überall dieselbe Anzahl von Toxinmolekülen binde. Sind also z. B. in einem L_0-Gemisch zur Neutralisierung des gesamten Toxins (t) *a* Antitoxinäquivalente nötig gewesen, so können diese *a* Äquivalente in der Folge unmöglich jemals mehr sättigen als t Moleküle Toxin. Also muß es, wenn das Gesetz gilt, genügen zu L_0 eine tödliche Giftdosis zuzusetzen, um ein tödliches Gemisch zu haben.

Und ebenso geht aus dem betreffenden Gesetz hervor, daß von einem abgeschwächten Gift, das weniger Toxinmoleküle in der Volumeinheit enthält, ein gegebenes Quantum weniger Antitoxin zur vollständigen Sättigung bedürfen wird, als die gleiche Menge eines frischen Giftes.

Entweder ist also das Gesetz der Multipla auf die Antitoxinreaktionen nicht anwendbar, und Gift und Gegengift reagieren miteinander in willkürlicher Weise; oder aber es bergen sich im Dunkel der Toxinkonstitution Besonderheiten, die jene Gesetzmäßigkeit verschleiern und dem Ablauf der Reaktion seine paradoxalen Merkmale aufprägen.

Diese letztere Annahme fängt von dem Momente an die wahrscheinlichere zu sein, wo Ehrlich den Begriff der Toxoide in die Toxinforschung einführt.

Literatur.

1) Ehrlich, Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Klin. Jahrb. 1897, Bd. VI, Heft 2. — 2) von Behring, Beitr. zur experim. Therapie, Heft 7, Ätiologie und ätiologische Therapie des Tetanus, Berlin 1904, Hirschwald. — 3) Arrhenius u. Madsen, Zeitschr. f. physikal. Chemie 1903, Bd. XXIV. — 4) Graßberger u. Schattenfroh, Über die Beziehungen von Toxin und Antitoxin, Leipzig 1904, Deuticke.

Viertes Kapitel.

Die Konstituenten des Diphtheriegiftes: Toxine, Toxoide, Toxone.

Wie wir gesehen haben, ist nach der Seitenkettentheorie das Toxinmolekül durch zwei funktionell scharf unterschiedene Atomgruppen charakterisiert: eine toxophore, die Trägerin der eigentlichen Giftwirkung ist, und eine haptophore, die dem Molekül gestattet mit fixen oder freien Zellrezeptoren in Verbindung zu treten. Es herrscht hierin eine weitgehende Analogie zwischen den Bakteriensekreten und der Gruppe der Enzyme. Die Untersuchungen von Emil Fischer, die von Oppenheimer[1]), Korschun[2]) und Morgenroth[3]) beigebrachten Aufklärungen theoretischer und experimenteller Natur berechtigen zu dem Schlusse, daß auch das Enzymmolekül sich der gärungsfähigen, anzugreifenden Materie mittelst einer besonderen haptophoren Gruppe verbindet, während der fermentative Prozeß selbst durch eine andere, die zymogene Gruppe, bedingt wird, die der toxophoren im Toxinmolekül äquivalent ist.

Von diesen zwei Gruppen ist die toxophore bedeutend labilerer Natur. Mannigfaltige äußere Einflüsse greifen sie an, zerstören sie. Leichtes Erhitzen, Behandlung mit bestimmten Chemikalien (Jodtrichlorid), Tageslicht u. a. m. verändern sowohl Toxine, als auch Enzyme in der Weise, daß Modifikationen entstehen, denen der toxische resp. fermentative Charakter teilweise oder vollständig fehlt, während — ein Beweis für die größere Stabilität der Haftgruppe — die fixativen Eigenschaften dem Antikörper gegenüber und die immunisatorischen Fähigkeiten erhalten bleiben.

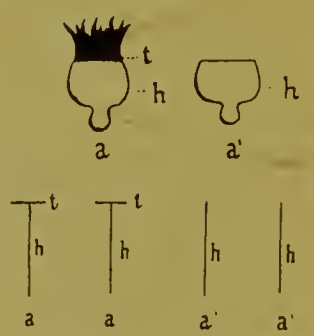


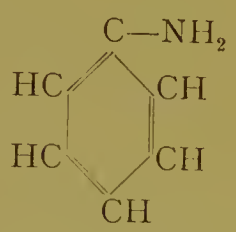
Fig. 5. *a* Toxinmolekül mit *h* haptophorer und *t* toxophorer Gruppe. *a'* Toxoid: die *t*-Gruppe ist zerstört.

Auf diese Weise können in einer Diphtheriebouillonkultur z. B. die Toxinmoleküle im Laufe der Zeit unter

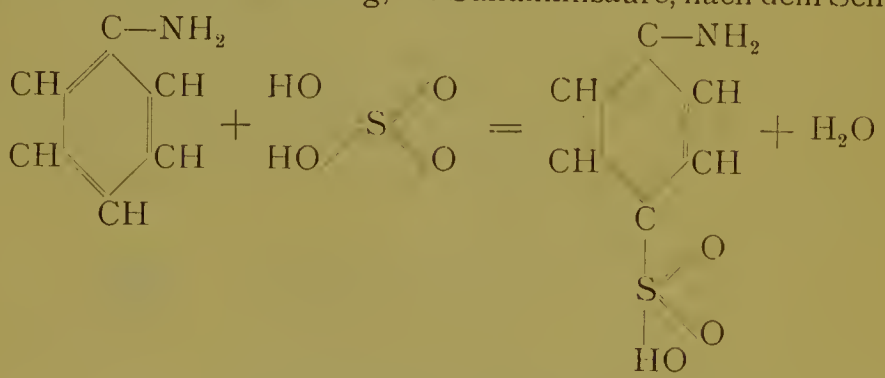
den verschiedensten Einflüssen Veränderungen erleiden, die im Verlust der toxophoren Gruppen und der mit ihrer Intaktheit verknüpften Eigenschaften gipfeln und so zur Bildung quasi neuer Körper, der Toxoide, führen.

Ein Beispiel aus der Chemie macht die Entstehung solcher toxoidalen Modifikationen des Toxinmoleküls noch anschaulicher (Ehrlich [4]).

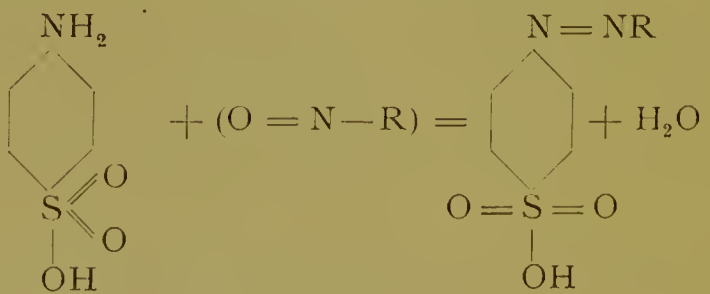
Nehmen wir ein Molekül Anilin



Es zeichnet sich durch zweierlei Art Eigenschaften aus: einmal durch die Fähigkeit, die es der NH_2-Gruppe verdankt, mit salpetriger Säure die sogen. Azoverbindungen einzugehen (Titrierung der Amidogruppe durch salpetrige Säure); zweitens durch seine Giftigkeit, die durch den Benzolring bedingt ist. Löst man Anilin bei einer bestimmten Temperatur in H_2SO_4, so entsteht eine Sulfoverbindung, die Sulfanilinsäure, nach dem Schema:



Der neue Körper unterscheidet sich vom Anilin durch seine Ungiftigkeit: im Benzolring ist unter dem Einfluß der Schwefelsäure eine Substitution erfolgt. Da aber dabei die Amidogruppe intakt geblieben ist, gibt er, gerade so wie das Anilin selbst, mit HNO_2 oder $O=N-C_6H_5$ Azoverbindungen.



Vergleicht man letztere Eigenschaft etwa mit dem Immunisierungsvermögen, die Giftigkeit des Anilins mit der eines Bakterientoxins, so ist die Analogie eine ganz frappante.

Es liegt ohne weiteres auf der Hand, daß ein Molekül solche Reaktionen, die nur einen Teil seiner Atome betreffen, andere aber vollständig unbeachtet lassen, um so leichter wird eingehen können, je komplizierter es gebaut ist, d. h. je mehr es voneinander unabhängiger Atomgruppierungen besitzt. Dieser Prämisse entsprechen nun gerade die Toxine durch ihre nahe Verwandtschaft mit den Eiweißkörpern, die Größe ihrer Moleküle, die Hartnäckigkeit, mit der sie bisher allen Versuchen, sie rein darzustellen, getrotzt haben, in weitgehendstem Maße. Von dieser Seite kann also ein Zweifel über die Möglichkeit, ja Wahrscheinlichkeit der Entstehung von Toxoiden im obigen Sinne und auf die angegebene Weise nicht mehr bestehen.

Es fragt sich nun, wie weit man damit in der Erklärung der im vorigen Kapitel ausgeführten Widersprüche zwischen praktischer Erfahrung und dem Gesetz der Multipla kommt, ohne letzteres aufgeben zu müssen.

Das eingehende Studium der Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine hat gelehrt, daß jede die Konstitution der zymophoren, agglutinierenden oder präzipitierenden Gruppe betreffende Veränderung im Molekül auch für die haptophore Gruppe insofern nicht ganz gleichgültig ist, als dadurch die Größe der Affinität derselben in geringerem oder höherem Maße beeinflußt werden kann; wenngleich an sich die haptophoren Qualitäten dieser Gruppe, selbst nach vollständiger Zerstörung der zymophoren resp. agglutinierenden etc. etc. Gruppe, noch erhalten bleiben und demonstrabel sind, wie wir dies weiter vorn gesehen haben. So erleidet z. B. die Avidität der haptophoren Gruppe eines Komplementmoleküls*) gegenüber hämolytischem Ambozeptor deutliche Einbuße, wenn durch Erwärmen auf 55° das Komplement

*) Unter der Bezeichnung „Complement“ (Ehrlich), „Cytase“ (Metchnikoff) oder „Alexin“ (Buchner) begreift man die in jedem normalen Serum enthaltene thermolabile Substanz, die imstande ist, inaktiven „Ambozeptor“ zu reaktivieren. Letzterer — auch substance sensibilisatrice (Bordet) genannt — ist das spezifische, thermostabile Prinzip, das im Serum mittelst Bakterien oder Zellen aktiv immunisierter Tiere auftritt. Bei der Cytolyse oder Bakteriolyse wird zuerst der Ambozeptor an die Rezeptoren der Bakterien- oder Zellart fixiert, die zu seiner Herstellung gedient hatte. Dann erst setzt sich das Komplement mit dem Ambozeptor, und durch seine Vermittelung, mit dem Angriffsobjekt in Verbindung. Allein als solches ist das Komplement nicht imstande irgend welchen cytolytischen oder bakteriolytischen Effekt auszulösen.

in „Komplementoid“ übergeht. Bringt man nämlich Ambozeptor mit einem Gemisch aus Komplement und Komplementoid zusammen, so wird er voll reactiviert. Das bedeutet, daß die Affinität der haptophoren Gruppe des Komplements zu der „komplementophilen“ des Ambozeptors größer ist, als die des Komplementoids. (Ehrlich). Umgekehrt wird ein auf 70° erhitztes präzipitierendes Serum (Laktoserum, Bakterienpräzipitin) unter Verlust dieser Eigenschaft zu einem deutlich antipräzipitierenden [Müller[5]) Kraus[6])]. Indem durch den Einfluß der hohen Temperatur die toxophore Gruppe zugrunde geht und so aus dem Präzipitin ein „Präzipitoid“ wird, erfährt die haptophore Gruppe eine markante Steigerung ihrer Affinität für die Rezeptoren der betreffenden präzipitablen Substanz, so das bei einer dem vorigen Beispiel analogen Kombination: Präzipitin, Präzipitoid, präzipitable Substanz, letztere durch das, ganz inaktive, Präzipitoid in Beschlag genommen und somit dem Angriff des fällenden Prinzips entzogen wird: die Fällung bleibt aus. Ähnlich ist es mit den „Proagglutinoiden“, der „toxoiden“ Modifikation der Agglutinine: mit dem Verlust der agglutinophoren Gruppe steigt das Bindungsvermögen der haptophoren für die entsprechenden Bakterienrezeptoren [Shiga[7])].

Aus diesen Tatsachen geht hervor, daß jede Veränderung an der toxophoren Gruppe oder der Verlust derselben die Affinität der Bindungsgruppe entweder steigern oder herabsetzen kann.

Diese im Gefolge der Toxoidbildung auftretenden quantitativen Modifikationen des Bindungsvermögens sind es, die den Gang der Antitoxinabsättigung beeinflussen und jene so paradoxen Erscheinungen hervorrufen, auf die zuerst Ehrlich aufmerksam gemacht hat und die im vorigen Kapitel eine eingehende Besprechung fanden.

In welchem Sinne müssen solche Aviditätsänderungen erfolgen, damit der Unterschied zwischen L_+ und L_o stets größer sei als die einfach tödliche Dosis?

Angenommen, die Zahl der „Bindungäquivalente“ oder „Bindungseinheiten“ (BE), die in jeder Immunitätseinheit enthalten sind, sei 200*). Ihnen entsprechen also in L_o — der Definition nach — 200 Toxinäquivalente, durch die sie vollständig gebunden sind. Von letzteren möge die Hälfte auf „Toxoide“ entfallen. Das heißt mit anderen Worten, es handle sich um ein Diphtherie-

*) Wir werden später sehen, daß diese Ziffer nicht willkürlich gewählt ist.

toxin, in dem im Momente der Herstellung der Mischung L_0 die Hälfte aller Moleküle durch Modifikation ihrer toxophoren Gruppe zu Toxoiden geworden waren. Diese Toxoide können nun, unter dem Gesichtswinkel der voraufgegangenen Betrachtungen, dreierlei Art sein:

1) Protoxoide oder Körper, deren Affinität für das betreffende Antitoxin größer,

2) Syntoxoide oder Körper, deren Affinität für das betreffende Antitoxin gleich,

3) Epitoxoide oder Körper, deren Affinität für das betreffende Antitoxin kleiner

ist, als die Affinität des echten Toxins.

Folgende einfache Überlegung zeigt nun, daß lediglich die Anwesenheit von Epitoxoiden für die gesuchte Erklärung herangezogen werden kann:

Bleiben wir bei dem Toxin, in dem die Hälfte aller Moleküle die atoxische Modifikation eingegangen ist, so wird, wenn es sich um

1. Protoxoide handelt, eine L_0-Mischung schematisch so darzustellen sein:

100 (Protoxoid-Antitoxin) + 100 (Toxin-Antitoxin). Damit sind die in 1 IE vorausgesetzten (siehe oben) Bindungseinheiten erschöpft; der Zusatz von 1 DL gibt also die gerade tödliche Mischung L_+:

100 (Protoxoid-Antitoxin) + 100 (Toxin-Antitoxin) + 1 Protoxoid + 1 freies Toxin = L_+.

2. Handelte es sich um Syntoxoide, so wäre die Berechnung genau die gleiche:

100 (Syntoxoid-Antitoxin) + 100 (Toxin-Antitoxin) (= L_0) gibt mit 1 DL, die nach unserer Voraussetzung 1 Toxin- und 1 Syntoxoidäquivalent enthalten muß:

100 (Toxin-Antitoxin) + 100 (Syntoxoid-Antitoxin) + 1 freies Syntoxoid + 1 freies Toxin — ist also ebenfalls tödlich.

3) Anders dagegen, wenn wir annehmen, daß der dritte mögliche Fall besteht, daß neben dem Toxin Epitoxoide vorhanden sind. Dann genügt eben der Zusatz von 1 DL zum neutralen L_0 offenbar nicht mehr; denn da die Avidität des intakten Toxinmoleküls, nach der Begriffsbestimmung, für die Antitoxinäquivalente größer ist, als die des Epitoxoids, so wird die eine neu hinzugekommene Toxineinheit vor allem eines der schon

an Antitoxin gebundenen Epitoxoidäquivalente aus dieser Verbindung herausdrängen, und das Resultat wird wieder eine inaktive Kombination sein.

100 (Toxin-Antitoxin) + 100 (Epitoxoid-Antitoxin) + 1 DL = 101 (Toxin-Antitoxin) + 99 (Epitoxoid-Antitoxin + 1 freie Epitoxoide.

Setzen wir, in unserem Fall, 50 DL zu, so wird die Reaktion so vor sich gehen müssen:

100 (Toxin-Antitoxin) + 100 (Epitoxoid-Antitoxin) + 50 DL = 150 (Toxin-Antitoxin) + 50 (Epitoxoid-Antitoxin) + 50 freie Epitoxoide.

Auch da noch bleibt die Melange inaktiv. Erst bei Zusatz von 101 DL:

100 (Toxin-Antitoxin) + 100 (Epitoxoid-Antitoxin) + 100 DL = 200 (Toxin-Antitoxin) + 100 freie Epitoxoide + 1 freies Toxin

gelangen wir zu einem wirksamen Resultat, zu dem gesuchten L_+. Es ist also nur im Falle der Epitoxoide — dann aber, wie aus unserer Berechnung klar hervorgeht stets — die zu L_0 hinzuzufügende Giftmenge, die wir weiter oben mit **D** bezeichnet hatten, größer als 1 DL; in unserem Spezialfall ist sogar

$$D = 101 \text{ DL}.$$

Jenes auf den ersten Blick so paradoxale Verhalten von Toxin-Antitoxingemischen, die Schwierigkeit, ja Unmöglichkeit, es mit theoretischen Prämissen in Einklang zu bringen, alles das findet also eine durchaus befriedigende Erklärung in der Annahme, daß in einer Diphtheriebouillon neben dem echten Toxin sich Epitoxoide vorfinden, Körper, deren Moleküle sich von den eigentlichen Toxinmolekülen durch geringere Avidität ihrer haptophoren Atomkomplexe gegenüber dem spezifischen Antikörper unterscheiden.

Stimmt somit die experimentelle Erfahrung ganz zur Idee einer komplexen Konstitution der Bakteriensekrete, so gewinnt letztere noch mehr an Realität durch die Analyse der pathogenen Eigenschaften, welche die sogenannte „intermediäre Giftzone“ (Ehrlich und Madsen) charakterisieren.

Wir haben gesehen, daß, wenn man einem L_0-Gemisch Toxin zusetzt, das Epitoxoid durch die neu hinzukommenden Toxinäquivalente aus seiner Verbindung mit dem Antitoxin herausgedrängt wird. Je mehr wir neues Gift zusetzen, um so mehr freie Epitoxoideinheiten enthält das Gemisch, bis unmittelbar vor L_+

das Maximum erreicht ist. Solche reichlich freies Epitoxoid enthaltende Toxin-Antitoxingemische sind nun für den tierischen Organismus durchaus nicht indifferent. Injiziert man sie Meerschweinchen subkutan, so entsteht nur eine leichte lokale Reaktion (Ödem, Haarausfall); aber nach einer Inkubationszeit von 14—28 Tagen [Ehrlich[8]) und Madsen[9]]*) gehen die Tiere unter ausgesprochenen Lähmungserscheinungen ein. Daß diese Wirkung nicht lediglich einen schwächeren Grad von Vergiftung, sondern eine Affektion sui generis — spezifische Epitoxoidwirkung — darstellt, geht daraus hervor, daß es mit schwachen (nicht tödlichen) Dosen möglichst reinen Toxins nur ganz ausnahmsweise gelingt, Lähmungen zu erzeugen; gewöhnlich entstehen nur lokale Ödeme und Nekrosen.

Wir sind also gezwungen, den Epitoxoiden, neben der schwächeren Affinität ihrer haptophoren Gruppe im Vergleich zu der echter Toxine, eine „toxophore" Gruppe zuzuerkennen, deren Wirkung eine spezifische ist und sich von der Wirkung der toxophoren Gruppe des echten Toxinmoleküls wesentlich unterscheidet. Damit erscheinen sie nicht mehr als bloße Abkömmlinge oder Abschwächungsprodukte der Toxine, und wir werden sie von jetzt ab, nach der Ehrlichschen Nomenklatur, als **Toxone** bezeichnen. Immerhin scheinen sie mit den Toxinen viel Gemeinschaftliches zu haben: Madsen und Dreyer[10]) gelang es, Tiere gegen Diphtherietoxin durch Injektion von Toxin-Antitoxingemischen zu immunisieren, deren Zusammensetzung zwischen L_0 und L_+ lag, die also nur freies Epitoxoid (Toxon) enthielten.

Nachdem es Ehrlich gelungen war, das erste der Paradoxen, die sich ihm bei seinen Bestimmungen der Grenzwerte L_+ und L_0 aufgedrängt hatten, aus der Anwesenheit von Toxonen in Diphtheriekulturfiltraten zu erklären, tauchte naturgemäß die Frage auf, ob sie, die Toxone, als transformierte Toxinmoleküle aufzufassen seien oder als primäre Produkte der Lebenstätigkeit der Bakterien, ebenso wie das echte Toxin selbst. Um diese Frage zu entscheiden, prüfte Ehrlich einerseits ganz frisches, anderseits altes Toxin, das also gewisse spontane Veränderungen erlitten hatte, auf ihren Gehalt an Toxon. Es stellte sich heraus, daß erstens Toxone sich auch in jungen Kulturen nachweisen lassen, die eben aus dem Brutschrank kommen; und daß zweitens die Transformation von Toxin in Toxoide den

*) Für Kaninchen beträgt sie etwa 26 Tage; sie variiert je nach dem verwendeten Toxin (in unseren Versuchen manchmal bis zu 1 Monate und mehr).

nachweisbaren Toxongehalt des Nährbodens keineswegs erhöht. Daraus geht hervor, daß es „epitoxoidale" Modifikationen des Diphtherietoxins eigentlich nicht gibt, daß vielmehr das, was wir „Epitoxoid" genannt haben, in gleicher Weise wie das eigentliche Toxin vom Löfflerschen Bazillus sezerniert wird. Damit ist seine Unabhängigkeit auch in genetischer Hinsicht sichergestellt.

Um es nochmals kurz zusammenzufassen: Toxone sind toxisch wirkende Körper, die ebenso wie das eigentliche Diphtherietoxin primäre Sekretionsprodukte des Löfflerschen Bazillus sind, sich aber durch geringere Avidität ihrer haptophoren und spezifische, lähmungserzeugende Eigenschaften der toxophoren Gruppe von jenen unterscheiden.

Bezeichnet man mit y die Zahl der Toxin- und mit z die der Toxonäquivalente in einem Volum (v) Kulturfiltrat, das genügt, um gerade eine IE abzusättigen, so wird diese Mischung so auszudrücken sein:

$$y \text{ Toxin-Antitoxin} + z \text{ Toxon-Antitoxin} = L_0.$$

Wir haben im vorigen Kapitel gesehen, daß ein gegebenes Diphtherietoxin mit der Zeit mehr oder minder an Giftigkeit einbüßt, während sein Bindungsvermögen für spezifische Antikörper dabei unverändert bleiben kann. Die Vorstellung zweier funktionell distinkter Atomgruppen im Toxinmolekül gestattet eine sehr plausible Erklärung dieser anscheinend so paradoxen Tatsache. Von dem ebenerwähnten Gesichtspunkt aus handelt es sich bei der spontanen Abschwächung des Toxins um ein Zugrundegehen der toxophoren Gruppen der Giftmoleküle, welche Zerstörung jedoch die haptophoren Gruppen in der Regel verschont, so dass der Affinitätswert der Volumeinheit in bezug auf Immunkörper der gleiche bleibt. Das zweite Ehrlichsche Phänomen findet somit seine Deutung in der Bildung von Toxoiden auf Kosten der intakten Toxinmoleküle: je reicher der Gehalt eines Giftes an solchen Toxoiden ist, um so größer ist natürlich die tödliche Dosis (durchs Volumen ausgedrückt).

Unter Berücksichtigung des im zweiten Kapitel Ausgeführten ist ohne weiteres einzusehen, daß diese Toxoide nur Protoxoide oder Syntoxoide sein können, also ihre Affinität größer als die des unveränderten Toxins oder die gleiche ist. Bezeichnet man

mit x die Zahl der von sämtlichen Toxoiden gelieferten Bindungsäquivalente, so erhält die Toxinformel folgendes Aussehen:

$$L_0 = x\,(\text{Syn- und Protoxoide}) + y\,(\text{Toxin}) + z\,(\text{Toxon}) \text{ und}$$
$$L_0 = x\,(\text{Toxoid-Antitoxin}) + y\,(\text{Toxin-Antitoxin}) + z\,(\text{Toxon-Antitoxin}).$$

Die vergleichende Wertbestimmung der Größen L_+ und L_0 für eine Anzahl sowohl frischer, als auch abgeschwächter Diphtherietoxine gestattete Ehrlich und Madsen die Zahl der in einer Volumeinheit enthaltenen Toxin-, Toxon- und Toxoidäquivalente zu bestimmen, mit anderen Worten, nach der qualitativen auch die quantitative Konstitution dieser Gifte aufzuklären. Das Wesentliche dieser Analyse besteht in der Feststellung der Anzahl „Bindungseinheiten" (BE), die in der Menge eines gegebenen Diphtheriegiftes enthalten sind, welche zur Neutralisierung einer IE notwendig ist. (Unter einer „Bindungseinheit" oder einem „Bindungsäquivalent" versteht man diejenige Menge reinen Toxins, die einer tödlichen Dosis entspricht; sie kann in Verbindungen mit Antitoxin durch das „Äquivalent" Toxon oder Toxoid ersetzt werden.) Eine ganze Reihe Überlegungen führt nun zu dem Schluß, daß die gesuchte Zahl **200** ist. Wir werden uns darauf beschränken, die entscheidendsten anzuführen.

Bestimmt man für eine Anzahl teils frischer, teils älterer Diphtheriegifte die L_0 entsprechende Zahl der letalen Dosis, so bemerkt man, daß diese Zahl bei ganz frischen Giften fast konstant 100 ist; bei abgeschwächten Toxinen, vom Momente an, wo sie sich nicht mehr verändern, beträgt sie stets annähernd an $^1/_2$ oder $^1/_3$ von hundert.

Dieses Zahlenverhältnis läßt sich am einfachsten dahin deuten, daß die Transformation der Toxinmoleküle in die Pro- resp. Syntoxoide in einem Falle dichotomisch erfolgt, d. h. so daß immer je 2 Toxinmoleküle 1 Molekül Toxin und 1 Molekül Toxoid bilden; oder im andern Falle trichotomisch; von je 3 Toxinmolekülen bleibt eines intakt und 2 geben die neue Form.

t t = 1 Toxoid + 1 Toxin (dichotomisch).
t t t = 2 Toxoide + 1 Toxin (trichotomisch);

Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die Zahl der in L_0 vorhandenen Bindungseinheiten 100 oder ein Multiplum dieser Größe beträgt. Die Analyse des Wertes L_+ gibt uns hierüber noch genauere Aufschlüsse. Enthielte das Diphtheriegift lediglich Toxinmoleküle, so würde die Zahl (n) der Bindungseinheiten in L_+

$$n = \frac{L_+ - 1\ DL\ (vol.)}{DL\ (vol.)}$$

sein. Die Höchstzahl, die für dieses n je gefunden wurde, ist 133 (Ehrlich) und 160 (Madsen). Da aber jedes Toxin außer echten Toxinmolekülen noch Toxone und Toxoide enthält — von denen allerdings nur die letzteren für die Bindung in L_+ in Betracht kommen — so sind die Ziffern 133 oder 160 sicher zu niedrig. Auf Grund dessen schließt Ehrlich, daß die gesuchte Zahl das nächste höhere Multiplum von 100 also „200" ist. Wir werden später sehen, daß er auf ganz anderem Wege zu demselben Resultate gelangt (s. S. 42).

Die Konstitution eines beliebigen Diphtheriegiftes würde sich demnach so darstellen lassen:

$$x \text{ Toxoide}^*) + y \text{ Toxine}^*) + z \text{ Toxone}^*) = 200.$$

An der Hand dieser Grundformel ist es verhältnismäßig leicht, die Zahlen für y und z zu finden, vorausgesetzt, daß die tödliche Dosis und die Werte L_0 und L_+ bekannt sind.

y) Die Zahl der Toxinäquivalente y in L_0 ist mit der Zahl der darin enthaltenen tödlichen Dosen (α) — der Bestimmung nach — identisch, also ist

$$y = \alpha$$

z) Für den Fall, daß außer Toxin nur Toxonäquivalente in der Mischung eine Rolle spielten, hätten wir

$$\alpha + z = 200$$
$$z = 200 - \alpha$$

Da aber das Gift außerdem noch Toxoide enthält, gewinnt die Formel dieses Aussehen:

$$(200 - \alpha - z) \text{ Toxoide} + \alpha \text{ Toxine} + z \text{ Toxone}.$$

Woraus weiter folgt, daß

$$L_0 = (200 - \alpha - z) \text{ Toxoid-Antitoxin} = \alpha \text{ Toxin-Antitoxin} + z \text{ Toxon-Antitoxin; oder}$$

$$L_0 = (200 - z) \left\{ \begin{matrix} \text{Toxin} \\ \text{Toxoid} \end{matrix} \right\} \text{ Antitoxin} + z \text{ Toxon-Antitoxin}.$$

Ehrlich hat aus vorstehender Formel auf komplizierte Weise folgende Gleichung abgeleitet, die gestattet, z auszurechnen:

$$z = \frac{200\,\beta}{\alpha + \beta}$$

wo β die Differenz D**) —1 DL ausdrückt.

*) d. h. der entsprechenden Bindungseinheiten.

**) $D = L_+ - L_0$.

x) Ist z einmal bekannt, so erhält man x auf einfache Weise aus der Gleichung:

$$x = 200 - (z + a)$$

Fassen wir den Inhalt dieses Kapitels kurz zusammen:

Das Studium der Giftigkeitswerte verschiedener Diphtherietoxine und ihrer Konstanten L_+ und L_0 führen zur Feststellung zweier sehr bemerkenswerter Tatsachen, die mit den theoretischen Voraussetzungen über die Art der Toxin-Antitoxinwirkung in scharfem Widerspruch stehen. Jene Voraussetzungen gingen dahin, in dem fraglichen Prozeß ein Analogon der Bindung starker Säuren durch Basen nach dem Prinzip der Multipla zu sehen. Die damit nicht vereinbaren Tatsachen sind:

1. Die Existenz einer „intermediären" Zone in der Absättigungskurve die bewirkt, daß der Unterschied zwischen der einfach tödlichen und der neutralen Toxin-Antitoxinmischung stets größer ist als eine tödliche Dosis.

$$D > 1\,DL.$$

2. Jedes Diphtheriegift erleidet mit der Zeit eine deutliche Abschwächung seiner Toxizität, das Neutralisationsvermögen gegenüber Antitoxin bleibt aber dabei erhalten.

Das alles war so einwandfrei beobachtet, daß große Zweifel an der Richtigkeit der theoretischen Konzeption auftauchen mußten. Die Schwierigkeiten erwiesen sich aber als durchaus überwindbar, als Ehrlich mit seinen Ideen über die Molekularstruktur des Toxins hervortrat. Die Annahme zweier funktionell verschiedener Atomgruppen im Giftmolekül gibt der Möglichkeit Raum, daß einmal, durch Zerstörung der toxophoren Gruppe allein, ungiftige „Toxoide" entstehen, deren Neutralisationsvermögen aber dank der haptophoren Gruppe in die Erscheinung tritt; daß andrerseits der Löfflersche Bazillus neben dem echten Toxin ein zweites toxisches Prinzip ausscheidet, das Toxon, dessen Giftgruppe von der des eigentlichen Toxins abweichende Wirkungen im Tierkörper entfaltet und dessen Haftgruppe mit einer schwächeren Affinität für Antitoxin ausgestattet ist.

Dadurch ließen sich jene — scheinbaren — Paradoxa in befriedigender Weise erklären. Das, was früher nur aprioristischer Wahrscheinlichkeitsschluß war, daß nämlich die Bakteriensekrete komplex konstituiert sein müßten, gewinnt immer mehr an Gewißheit. Auf Grund der Arbeiten Ehrlichs ist nicht nur die qualitative, sondern auch die quantitative Konstitution namentlich

des Diphtheriegiftes in großen Zügen aufgedeckt. Wir werden im nächsten Kapitel sehen, daß eine Menge neuer, mit Hilfe der von Ehrlich geschaffenen Methode der „partiellen Absättigung“ entdeckter Tatsachen die beim Studium der Neutralisationskonstanten (L_+ und L_0) gemachten Erfahrungen durchaus bestätigt hat.

Literatur.

1) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, Leipzig 1903, Vogel. — 2) Korschun, Zeitschr. f. physiol. Chemie 1903, Bd. XXXVII. — 3) Morgenroth, siehe Kap. I, Lit. No. 11. — 4) Ehrlich, University Record 1904, Vol. IX, No. 2. — 5) Müller, Vergl. Studien über die Gerinnung des Kaseïns durch Lab- und Laktoserum, München, Oldenburg. — 6) Kraus, Protok. aus der k. k. Gesellschaft der Ärzte, Wien 1901. — 7) Shiga, Zeitschr. für Hyg. 1904. — 8) Ehrlich, siehe Kap. I, Lit. No. 26. — 9) Madsen, Ann. Inst. Pasteur 1899, Tome XIII. — 10) Madsen u. Dreyer, Zeitschr. für Hyg. 1900.

Fünftes Kapitel.

Die partielle Sättigung.

Diese von Ehrlich in die Toxinforschung eingeführte Methode besteht darin, daß man einer bestimmten Dosis Gift, die entweder L_0 oder L_+ entspricht, abgemessene Quantitäten Antitoxin zusetzt und durch den Tierversuch die Zahl der freigebliebenen resp. gebundenen tödlichen Dosen feststellt. Man kann auf diese Weise den Verlauf der Bindung von Toxin durch Antitoxin genau beobachten und die Giftkomponenten voneinander trennen. Ferner lassen sich durch graphische Darstellung der Beobachtungsresultate gewissermaßen „Giftspektra" herstellen, die die Affinität der verschiedenen Toxinbestandteile gegenüber dem Antikörper jeweilig auf den ersten Blick beurteilen lassen.

Die Einzelheiten dieser Methode sind folgende[1]):

Im vorigen Kapitel haben wir gesehen, daß nach Ehrlich in einer IE die Zahl der Bindungseinheiten theoretisch sich auf 200 berechnen läßt. Teilt man also eine IE Antitoxin in 200 gleiche Teile, so hat man einzelne BE zur Verfügung, mit denen man aus der Toxinmenge L_+ z. B. Mischungen herstellen kann, die sukzessive 1, 2, 3, 4 . . . . usw. Bindungseinheiten des Immunserums enthalten, also:

$$L_+ + {}^1/_{200}\,\text{IE},$$
$$L_+ + {}^2/_{200}\,\text{IE},$$
$$L_+ + {}^3/_{200}\,\text{IE},$$
$$L_+ + {}^n/_{200}\,\text{IE}.$$

Von diesen Kombinationen injiziert man Meerschweinchen verschiedene Mengen subkutan und bestimmt so die einfach tödliche Dosis x einer jeden Mischung und durch die Teilung $\frac{L_+}{x}$*) die Zahl der in ihr enthaltenen x. Aus dem Vergleich dieser

*) Genauer $\frac{L_+ + {}^n/_{200}\,\text{IE}}{x}$

mit der Anzahl DL in L+ ergibt sich die Quantität der schon abgesättigten, gebundenen Giftdosen für jedes einzelne Gemisch. Als Beispiel diene folgender Versuch:

Diphtheriegift I (5 tägige Kultur, Ehrlich) DL = 0,024, L+ 2,05 = 85 DL.

A.	Bei	Zusatz	von	$\frac{200}{200}$	IE	zu	L+	(= 2,05	cc	Toxin)	ist	die	Mischung	1 mal tödlich
B.	„	„	„	$\frac{180}{200}$	„	„	L+	(= 2,05	„	„	„	„	„	$3^1/_2$ „ „
C.	„	„	„	$\frac{160}{200}$	„	„	L+	(= 2,05	„	„	„	„	„	10 „ „
D.	„	„	„	$\frac{50}{200}$	„	„	L+	(= 2,05	„	„	„	„	„	60 „ „
E.	„	„	„	0	„	„	L+	(= 2,05	„	„	„	„	„	85 „ „

Daraus ergibt sich, daß im Gemisch

A	die	200 BE	84	DL	neutralisiert	hatten,	in
B	„	180 BE	81,5	DL	„	„	„
C	„	160 BE	75	DL	„	„	„
D	„	50 BE	25	DL	„	„	„
E	„	0 BE	0	DL	„	„	

Die Resultate lassen sich durch ein Diagramm wiedergeben, in dem

1. die Abszisse in 200 gleiche Teile geteilt ist, von denen jeder einer BE entspricht; die Avidität dieser Bindungseinheiten für Toxin ist von links nach rechts abnehmend gedacht;

2. die Ordinaten Rechtecke sind, deren Basis immer je eine BE ist, und deren Höhe in 10 Teile geteilt, die Giftigkeit des von dieser BE gebundenen Toxinäquivalentes angibt; sind alle 10 Felder über einer BE markiert, so heißt dies, daß sie reines Toxin gebunden hatte; sind nur 5 bezeichnet und 5 frei, so ist an der Bindung $^1/_2$ Äquivalent Toxin und $^1/_2$ Äquivalent Toxoid beteiligt usw. Das Spektrum des vorhin analysierten Giftes I würde demnach so aussehen:

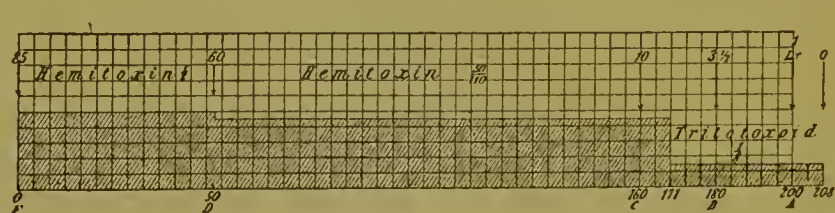


Fig. 6 (nach Ehrlich).

Die Untersuchung einer großen Anzahl von Diphtheriegiften mit dieser Methode gestattete Ehrlich und Madsen, sehr wichtige Schlüsse in Bezug auf die komplexe Konstitution der Toxine zu ziehen. Danach sezerniert der Löfflersche Bazillus vier Arten toxischer Moleküle, die sich sowohl durch das Bindungs-

1 IU = 200 B.U.

vermögen ihrer haptophoren, wie auch durch die pathogenen Wirkungen ihrer toxophoren Gruppen und die Neigung zur Toxoidbildung voneinander trennen lassen.

Vor allem hat man Toxine und Toxone zu unterscheiden. Letztere haben eine haptophore Gruppe mit geringerem Bindungsvermögen, und ihre Wirkung auf den Tierkörper tritt vorwiegend in Gestalt von Lähmungen ein, während das echte Toxin lokale Erscheinungen (Ödem, Abszeß, Nekrose) und viscerale Veränderungen (Hydrothorax, Schwellung und Hämorrhagien der Nebennieren etc.) verursacht.

Das theoretisch einfachste Gift ist offenbar ein solches, das nur diese beiden Sekretionsprodukte zu gleichen Teilen enthält. Dann ergibt der Sättigungsversuch folgende Zahlen*):

x ccm Toxin (100 DL) + $\frac{200}{200}$ IE = keine Wirkung,
„ „ „ „ „ + $\frac{150}{200}$ IE = Paralyse (Toxonwirkung),
„ „ „ „ „ $\frac{100}{200}$ IE = idem,
„ „ „ „ „ $\frac{99}{200}$ IE = Toxinwirkung (1 freie DL),
„ „ „ „ „ $\frac{70}{200}$ IE = idem (30 freie DL) etc. etc. etc.

Das entsprechende Spektrum ist:

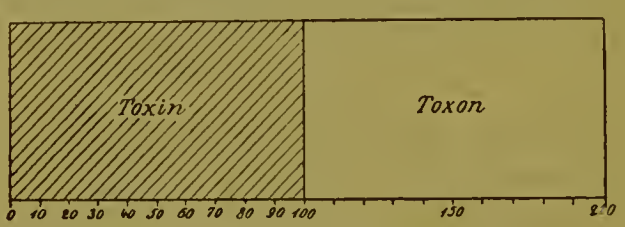


Fig. 7 (nach Oppenheimer).

Die Toxine bilden ihrerseits drei Kategorien mit verschiedener Affinität für Immunkörper: 1. Prototoxin, 2. Deuterotoxin, dessen Affinität schwächer ist als die des ersteren, und 3. Tritotoxin, das noch eine Stufe niedriger steht. Alle drei aber überragen das Toxon in Bezug auf die Fähigkeit Antikörper zu binden. Nachstehendes Schema bringt das zum Ausdruck:

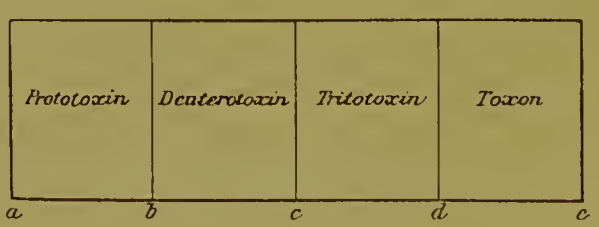


Fig. 8.

Jede dieser Toxinvarietäten bildet im Laufe der Zeit Toxoide, deren Avidität, dank der Intaktheit der haptophoren Gruppe, die gleiche ist wie die der Muttermolekeln (Syntoxoide). Aber diese Umwandlung erfolgt nicht gleichzeitig und gleichmäßig bei allen drei Kategorien. In der Tat

*) Nach Oppenheimer (2).

scheint jede von ihnen in zwei Varianten aufzutreten, die man nach Ehrlich mit α und β bezeichnet hat und die sich zu einander so verhalten wie zwei Isomeren. Wir hätten also ein α-Prototoxin, ein β-Tritotoxin usw. usw.

Von diesen beiden Varianten ist die α-Form die fragilere in dem Sinne, daß sie leichter in die toxoide Modifikation übergeht, als β. So gibt es — bald nach der Herstellung — für jedes Diphtheriegift ein Stadium, wo alle α-Toxine zu Toxoiden geworden sind: Hemitoxinphase:

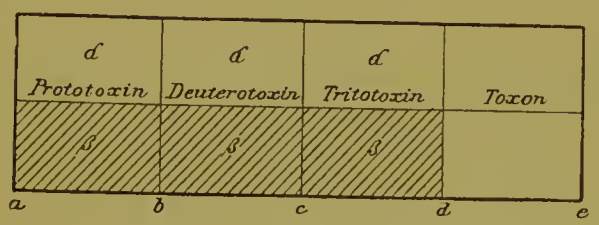


Fig. 9.

Aber auch die β-Abart unterliegt einer Umwandlung, und zwar fängt diese bei β-Tritotoxin an (Tritotoxoidphase) und endet mit der Entstehung von β-Prototoxoiden. Ist diese letztere Umwandlung erfolgt, dann hört das Gift auf sich zu zersetzen, und seine Konstitution bleibt — kleine Schwankungen ungerechnet — endgültig folgende:

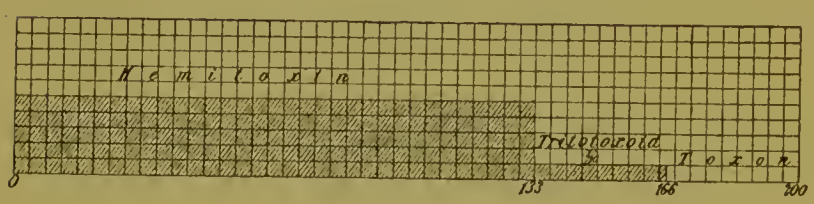


Fig. 10 (nach Ehrlich).

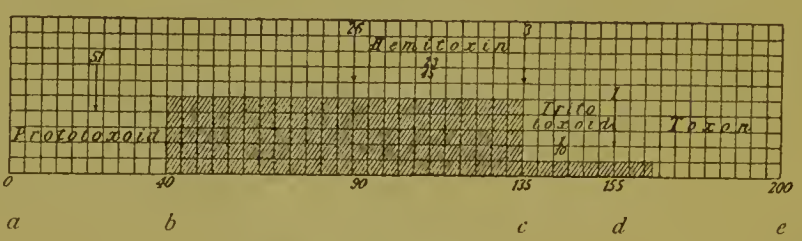


Fig. 11 (nach Ehrlich).

Die Beobachtungen, die zur Konstruktion dieses Giftspektrums berechtigen, sind kurz folgende:

1. Fügt man zu einer bestimmten Menge einer Giftbouillon (L_0) so viel Bindungseinheiten (BE $= \frac{1}{200}$ IE), daß ihre Zahl zwischen den Punkten a und b der Abszisse liegt (Prototoxoidzone), so ist das Gemisch so giftig wie die reine Diphtheriebouillon. Also hat jede der hinzugefügten $\frac{1}{200}$ IE o DL neutralisiert; mit andern Worten: die kraft ihrer maximalen Avidität zuallererst zur Bindung gelangenden Prototoxine sind gänzlich in die toxoide Modifikation übergeführt.

2. Entspricht die Zahl der zugesetzten BE der Strecke b—c der Abszisse, so konstatiert man, daß jede der Bindungseinheiten eine halbe tödliche Dosis neutralisiert. Das besagt, daß gerade die Hälfte aller Deuterotoxineinheiten zu Toxoiden geworden sind (Hemitoxinzone).

3. Liegt die Zahl der BE im Gemisch zwischen den Punkten c und d, d. h. innerhalb der Tritotoxinzone, so neutralisiert jede ein Achtel der tödlichen Dosis. Also sind $^7/_8$ des Tritotoxins in das ungiftige Toxoid übergegangen und $^1/_8$ fungiert als Toxin weiter.

4. Setzt man endlich so viel Immunserum zu, daß die Zahl der BE in die Toxonzone (d—e) fällt, so erhält man ein sogenanntes „intermediäres" Gemisch, das, je nachdem die BE-Zahl näher an **d** oder an **e** liegt, schwerere oder leichtere Lähmungserscheinungen bei einem damit behandelten (subkutan geimpften) Meerschweinchen hervorruft.

Die Ehrlichsche Methode der Giftanalyse scheint sehr exakt zu sein. So hat — um nur einen Begriff davon zu geben — Madsen[2]) mit Hilfe der Formel $z = \frac{200\,\beta}{\alpha + \beta}$ *) die Zahl der in einer bestimmten Dosis eines Diphtheriegiftes enthaltenen Toxonäquivalente theoretisch auf annähernd 33 berechnet. Der Versuch lehrte, daß diese Voraussetzung ganz richtig war; denn wenn der fraglichen Dosis $\frac{170}{200}$ IE zugesetzt wurden, blieben die Tiere am Leben; bei Zusatz von $\frac{160}{200}$ dagegen starben sie. Folglich lag tatsächlich die Anzahl der Toxonäquivalente zwischen 30 und 40 (Oppenheimer).

Ehrlich hat unter anderem mit demselben Erfolg, einzig und allein aus den vorherbestimmten Größen L_0 und DL den Grenzwert L_+ für das betreffende Gift berechnet. Solche Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen theoretischer Berechnung und der Nachprüfung im Tierexperiment beweisen, daß die Grundlage der Methode der partiellen Absättigung wohl richtig ist, d. h. daß tatsächlich in einer Immunitätseinheit 200 Bindungsäquivalente zur Verfügung sind. In der Tat gibt es Diphtheriegifte, deren genaue Analyse Strecken im Spektrum ergibt, wo $^1/_{200}$ einer IE Antitoxin genau eine tödliche Toxindosis neutralisiert. So hat Ehrlich[3]) ein

*) Siehe S. 34.

Toxin untersucht, dessen $L_0 = 85$ DL war und das folgendes Spektrum hatte:

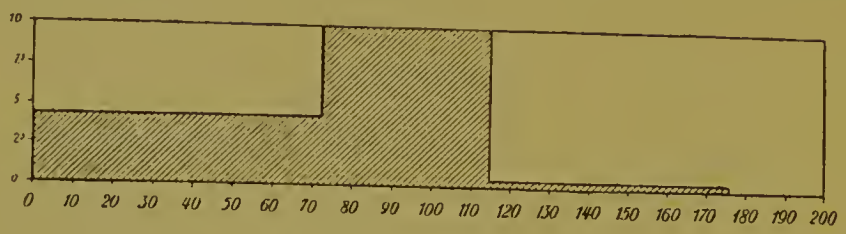


Fig. 12 (nach Ehrlich).

Im ersten Drittel bindet jede BE eine halbe tödliche Dosis; dies ist also die Hemitoxinzone. Im zweiten Drittel (von 70 bis 115 BE) verschwindet auf Zusatz einer BE genau eine DL. Das heißt: Ein Zweihundertstel der eine IE enthaltenden Antitoxinmenge bindet das als Einheitsäquivalent angenommene, einer DL entsprechende Gift. Das ist ein Beweis für die Richtigkeit der Zahl 200 und zugleich eine Entkräftigung der gegen sie ausgesprochenen Bedenken wegen ihres angeblich rein arbiträren Charakters.

Literatur.

1) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1898, No. 21, Berl. klin. Wochenschr. 1903, No. 35—37. — 2) Madsen, siehe Kap. IV, Lit. No. 10. — 3) Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1903, No. 35—37.

Sechstes Kapitel.

Die allgemeine Bedeutung der Toxoidhypothese.

Die Ansicht, daß in Diphtheriekulturen neben echten Toxinen andere giftartige Substanzen auftreten können, die sich in einer gewissen Abhängigkeit von jenen befinden, indem die teils aus ihnen entstehen, teils nebenher primär secerniert werden, erhält eine weitere Stütze durch die biologische Analyse einer großen Anzahl von anderen Bakteriengiften, von Fermenten, Immunseris usw., in deren Konstitution sich Körper aufdecken ließen, die mit den Toxoiden des Diphtheriegiftes weitgehende Analogien zeigen.

In einer Reihe höchst interessanter Versuche hat Jacoby[1]) gezeigt, daß das Ricinmolekül z. B. als aus drei funktionell verschiedenen Atomgruppen gebildet zu denken ist: einer toxophoren, einer agglutinophoren und einer haptophoren Gruppe, nach folgendem Schema:

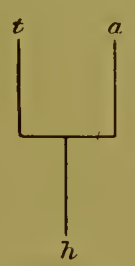


Fig. 13.

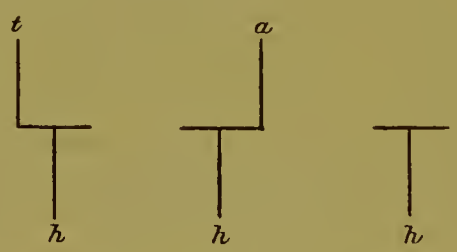


Fig. 14.

Erstere (t) ist die Trägerin der vergiftenden Wirkung des Ricins auf empfängliche Organismen; die zweite (a) bedingt den agglutinierenden Einfluß dieses Giftes auf rote Blutkörperchen. Beide besitzen eine gemeinschaftliche haptophore Gruppe (h), so daß der Antikörper, das Antiricin, gleichwertig sowohl die t-, wie die a-Gruppe unschädlich macht. Durch Einwirkung verschiedener abschwächender Momente kann nun entweder nur eine der beiden Funktionsgruppen zerstört werden oder beide, so daß es, wie Jacoby demonstrieren konnte, drei Arten Ricintoxoide gibt: 1) ein rein toxisches, 2) ein ausschließlich agglutinierendes und 3) ein gänzlich inaktives.

Zu ähnlichen Resultaten kamen Roemer[2]) in seinen Versuchen mit Abrin und Myers[3]), der mit Schlangengift arbeitete.

Das größte Interesse aber, besonders für die Wertbemessung der Methode der partiellen Sättigung, verdienen die Toxoide des Tetanolysins, die Madsen[4]) im Ehrlichschen Laboratorium außerordentlich eingehend studiert hat. Er benutzte dazu ein trockenes Tetanusgift, das intensiv lytisch für Kaninchenblut war. Die Versuche wurden in vitro angestellt und der Grad der Hämolyse durch kolorimetrischen Vergleich mit einer Lösung von 1 ccm Blut in 50 resp. 120 ccm destillierten Wassers bestimmt. Vor allem stellte Madsen fest, daß 1,3 bis 1,4 ccm seines Tetanusantitoxins 2 ccm einer 2% Toxinlösung vollkommen neutralisierte, nach der Formel: $L_0 = 1{,}3 - 1{,}4$ ccm Antitoxin + 2 ccm Tetanolysin. Darauf ordnet er einen Sättigungsversuch in der Weise an, daß zu je 2 ccm der 2% Toxinlösung Teile der neutralisierenden Antitoxindosis zugesetzt werden: $\frac{A}{0{,}1}, \frac{B}{0{,}25}, \frac{C}{0{,}4}$ $\frac{D}{0{,}6}, \frac{E}{0{,}8}, \frac{F}{1{,}20}$. Nach 2 Stunden Kontakt verdünnt er die Lösungen A—F derart, daß jede drei verschiedene Konzentrationen gibt, die einer Toxinkonzentration von 1%, 1/10%, und 1/100% entsprechen. Außerdem werden gleichwertige (d. h. 1%, 1/10% und 1/100%) Lösungen des reinen Toxins hergegestellt und dann an 15 ccm Kaninchenblut beide Art Lösungen, sowohl des reinen, als auch des mit Antitoxin versetzten Toxins, auf ihren hämolytischen Wert geprüft.

Diese Versuche haben ergeben, daß das Antitoxin, statt immer äquivalente Toxinmengen zu neutralisieren, eine ganz unregelmäßige Wirkung entfaltet. Und zwar neutralisiert die erste Fraktion beträchtlich mehr, als sich theoretisch erwarten läßt.

1/13	Antitoxin	verringert	die	Toxizität	von	L_0	um	1/2	statt	1/13
1/5	„	„	„	„	„	„	„	9/10	„	1/5
1/3	„	„	„	„	„	„	„	29/30	„	1/3
1/2	„	„	„	„	„	„	„	99/100	„	1/2
1/1,06	„	„	„	„	„	„	„	399/400	„	1/1,06

Graphisch lassen sich diese Resultate durch ein Spektrum darstellen, das dem im vorigen Kapitel für Diphtherietoxin beschriebenen analog konstruiert wird. Die Abszisse repräsentiert die vollständig neutralisierende Dosis Antitoxin (in unserem Beispiel = 1,3). Sie ist in 130 gleiche Teile geteilt, von denen jeder einer BE entspricht; die Avidität dieser BE. BE. für Toxin nimmt

von links nach rechts ab. Die Ordinaten stellen die hämolytischen Werte der Toxinäquivalente dar, die der betreffenden BE des Antikörpers (= Teilstrichen der Abszisse) entsprechen. Das Lösungsvermögen wird nun so gefunden, daß man die Gesamtmenge Blutes bestimmt, die durch 1 ccm des 1 % Lysins gelöst wird, wenn man einerseits diesem Lysin 10, 25, 40 usw. BE Antilysin zusetzt, andererseits das reine Lysin wirken läßt. Nachfolgend ein Beispiel solcher Versuchsreihe:

				Unterschied
1 ccm	1 % Lysins		löst 1150 ccm Blut	
1 „	1 % „	+ 10 BE Ant.	„ 600 „ „	— 550 ccm
1 „	1 % „	+ 25 BE „	„ 115 „ „	— 485 „
1 „	1 % „	+ 40 BE „	„ 38 „ „	— 77 „

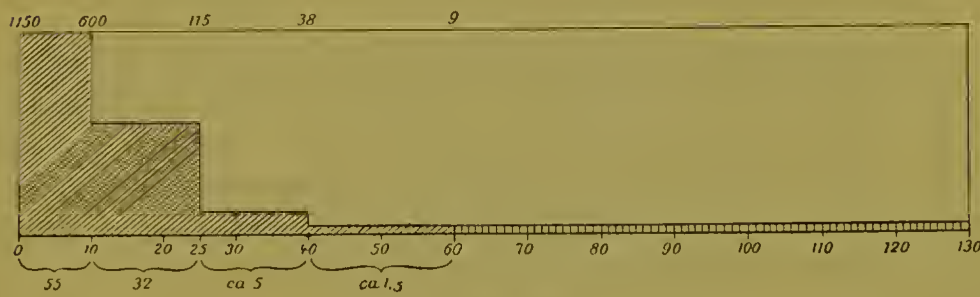


Fig. 15 (nach Madsen).

Die Versuche Madsens zeigen, daß die Moleküle des Tetanolysins sich erstens durch ihre Avidität für das Antilysin, zweitens durch ihren Giftigkeitswert voneinander unterscheiden. In der Tat ist das Bindungsvermögen für den Antikörper bei den an die ersten 10 BE gebundenen Toxinäquivalente ein größeres, als in der zweiten Zone. Außerdem ist das Toxin der ersten Zone giftiger, als das der zweiten, dritten oder vierten, da jedes der Äquivalente 1—10 etwa 1,7 mal so viel Blut zu lösen imstande ist, als die gleiche Menge aus der benachbarten Zone.

Da auf diese Weise frisches Tetanolysin durch mehrere Kategorien Giftmoleküle konstruiert erscheint, läßt sich erwarten, daß jede dieser Kategorien ihrerseits Toxoide bildet. Die ist auch nach weiteren Untersuchungen Madsens der Fall. Das hämolytische Prinzip des Tetanustoxins ist äußerst labil, wenn man es in physiologischer Kochsalzlösung ohne weitere Vorsichtsmaßregeln aufbewahrt: schon nach 5 Stunden ist sein Lösungsvermögen auf die Hälfte, nach 24 Stunden auf $^1/_{15}$ des anfänglichen Wertes gesunken. Untersucht man nun mittelst der Absättigungsmethode sein Bindungsvermögen für Antilysin, so zeigen sich die Neutralisationskonstanten L_+ und L_0 trotzdem unver-

ändert. Das deutet auf die Entstehung von Toxoiden hin. Die eingehende Analyse — analog der beim Diphtheriegift beschriebenen — zeigt, daß diese Modifikationen vorwiegend auf Kosten der ersten Toxinzone erfolgen, d. h. Prototoxoide darstellen.

Aus den Untersuchungen von Madsen erhellt, daß das Tetanolysin, ebenso wie das Diphtherietoxin eine komplexe Konstitution hat, daß man hier wie dort Prototoxine, Deuterotoxine, Tritotoxine, Toxone zu unterscheiden hat. In dem weiter oben reproduzierten Lysinspektrum entspricht die

I. Zone zwischen 0 und 10 BE, dem Prototoxin,
II. „ „ 10 „ 25 „ „ Deuterotoxin,
III. „ „ 25 „ 60 „ „ Tritotoxin,
IV. „ „ 60 „ 130 „ „ Toxon.

Wahrscheinlich unterscheidet sich der aktive Atomkomplex des Toxonmoleküls qualitativ — ebenso wie bei der Diphtherie — von der toxophoren Gruppe des Proto-, Deutero- etc. Lysins. Denn während die hämolytischen Eigenschaften der letzteren sowohl in der Kälte, als auch bei Erwärmung zutage treten, wirkt das Toxon erst bei einer Temperatur, die 10° übersteigt, lösend auf Erythrocyten (Madsen).

Zu analogen Resultaten gelangten Neißer und Wechsberg[5]) in ihren Untersuchungen über die Konstitution des Staphylolysins, eines vom *Staphylococcus aureus* secernierten blutlösenden Giftes. Die Autoren benutzten ein Präparat, dessen DL, d. h. die 1 ccm Kaninchenblut lösende Dosis, 0,009 ccm betrug. Die Konstante $L_0 = 0{,}05$ L (Lysin) + 0,08 A (Antilysin) oder $L_0 = 5{,}5$ DL. Zur Erleichterung in maßtechnischer Hinsicht arbeiteten Neißer und Wechsberg mit 120fachen Mengen dieser Dosen, nach der Formel:

$$L_0 = 6 \text{ ccm } L + 9{,}6 \text{ ccm A.}$$

Die partielle Sättigung stellten sie so an, daß zu einer bestimmten Menge Lysin (6 ccm) $\frac{1}{50}$ der zur vollständigen Neuralisierung erforderlichen Antilysinmenge d. h. $\frac{9{,}6}{50}$ ccm oder die Multipla (also $\frac{1}{50}$, $\frac{2}{50}$ . . . . $\frac{n}{50}$) zugesetzt wurden. Bei Prüfung des Auflösungsvermögens dieser verschieden Gemische für Kaninchenblut zeigte sich, daß, ebenso wie beim Tetanolysin, der Gang der Antitoxinwirkung das Gesetz der Multipla durchaus nicht befolgt. Denn die der Gifteinheit zugefügte erste Immunkörperportion entzieht derselben einen viel größeren Teil ihres lytischen Wertes, als theoretisch erwartet werden kann. Löst das reine Lysin innerhalb eines bestimmten Zeitabschnittes beispielsweise 670 Tropfen Kaninchenblut, so beträgt

die entsprechende Blutmenge nach Zusatz von $^1/_{50}$ A nur noch 210, statt 650 Tropfen. Nachstehendes Spektrum veranschaulicht die Art und Weise der Absättigung von Staphylolysin durch sein Antilysin:

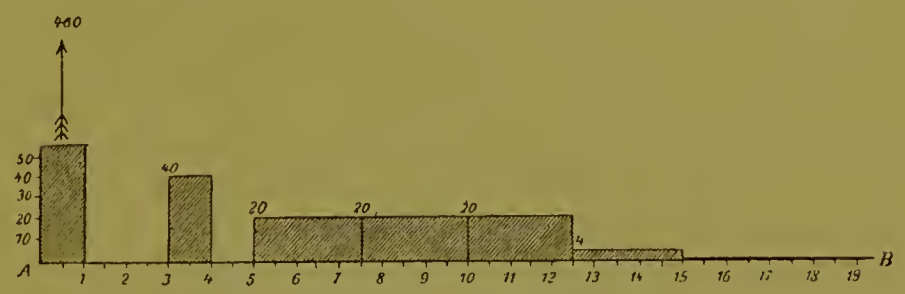


Fig. 16 (nach Neisser u. Wechsberg).

Beim Betrachten dieses Spektrums fällt auf, daß die BE. des Immunkörpers, die zwischen 1 und 3 liegen, die Giftigkeit des zugesetzten Lysins gar nicht beeinflussen. In dieser Zone hat also scheinbar ein ungiftiges Prinzip, das jedoch Affinitäten zum Antilysin besitzt, letzteres in Beschlag genommen. Neißer und Wechsberg schliessen, nach der Ehrlichschen Theorie, auf die Anwesenheit von Toxoiden, und zwar von Prototoxoiden, die ihre Entstehung einer spontanen Modifikation des Prototoxins resp. Protolysins verdanken. Da sie aber, statt im Spektrum letzteren übergeordnet zu sein, eine eigene Zone nach rechts von der Prototoxinzone bilden, ist ihr Bindungsvermögen — durch den Verlust der toxophoren Gruppe — augenscheinlich geringer, als das der Ursprungsmoleküle. Es liegen also ähnliche Verhältnisse vor, wie wir sie für die Entstehung von Komplementoiden aus Komplement erwähnt haben.

Was die Toxone des Staphylolysins anlangt, so unterscheiden sie sich nach Neißer und Wechsberg vom eigentlichen Lysin dadurch, daß sie ihre hämolytische Wirkung nur langsam und nur den weniger widerstandsfähigen Erythrocyten gegenüber entfalten.

Ungeachtet der weitgehenden Analogie zwischen den Beobachtungen von Madsen und von Neißer und Wechsberg einerseits, und den von Ehrlich im Laufe seiner Toxinforschungen aufgedeckten Befunden andererseits, haben mehrere Untersucher, u. a. Arrhenius und Madsen selbst, sich gegen die Existenz von Toxoiden und besonders von Toxonen des Tetanolysins und Staphylolysins ausgesprochen. Wie wir später sehen werden, erklären diese Untersucher den eigentümlichen Verlauf der Toxin-Antitoxinbindung durch das Prinzip der Reversibilität der Reaktion und halten die Konstitution der genannten Lysine für eine sehr

einfache (s. Kap. 9). Ja noch mehr: sogar im Ehrlichschen Institut selbst schien man eine Zeitlang den früher von Madsen und Neißer-Wechsberg eingenommenen Standpunkt aufgeben und sich mehr auf die Seite der simplizistischen Auffassung von Arrhenius neigen zu wollen; allerdings unter Aufrechterhaltung der für die komplexe Konstitution des Diphtherietoxins stimmenden Ansicht. Aber in jüngster Zeit sind neue Tatsachen bekannt geworden, die sich in der Arrhenius-Madsenschen Deutungsweise nicht erklären lassen. Das Danyszsche Phänomen. auf das wir noch zurückkommen werden, stellt u. a. eine ernste Schwierigkeit für die Verteidigung der Reversibilität von Toxin-Antitoxinreaktionen dar, so daß augenblicklich der Annahme toxoidaler Modifikationen im Tetano- und Staphylolysin nichts im Wege steht*).

Auch Fermente können ihrerseits unter dem Einfluß gewisser Faktoren Derivate bilden, die in Konstitution und Eigenschaften an Toxoide erinnern. Das kann nicht wunder nehmen, denn nach Roux und Ehrlich teilen die Fermente gewisse Charakteristika und Besonderheiten mit den Toxinen. Emil Fischer hat festgestellt, daß zwischen den verschiedenen Enzymen und der Substanz, auf die ihr Angriff gerichtet ist, von vornherein ein gewisses, chemisches, Verhältnis besteht und zwar derart, daß schon im Bau des Enzymmoleküls jeweilig die Bedingungen für die Möglichkeit liegen, diese oder jene Materie anzugreifen und andere zu verschonen. Fischer hat dieses Verhältnis durch den bekannten Vergleich mit Schlüssel und Schloss sehr anschaulich gemacht. Für Ehrlich, Morgenroth,[6]) Oppenheimer[7]) u. a. ergab sich dadurch die Annahme zweier funktionell differenzierbarer Atomkomplexe auch im Fermentmolekül. Sie unterscheiden eine zymophore Gruppe, an welche die spezifischen Fermentwirkungen gebunden sind, von der haptophoren, die die Verbindung mit der fermentesciblen Substanz herstellt, nehmen also — schematisch — Verhältnisse an, wie wir sie für die Bakteriensekrete kennen gelernt haben. Diese Analogie wird noch dadurch erweitert und begründet, daß Fermente nach Untersuchungen von Röden[8]), Hammarsten[9]), Hildebrandt[10]), v. Dungern[11]), Morgenroth[12]), Moll[13]), Gessard[14]) etc. bei geeigneter Einverleibung in den Tierkörper Antifermente bilden, die imstande sind ihre Antigene in spezifischer Weise zu neutralisieren.

*) Anders freilich liegt die Frage für die Existenz von entsprechenden Toxonen, wenn man in Betracht zieht, daß sie nicht wie die Diphtherietoxone, eine toxophore Gruppe mit spezifischen Eigenschaften besitzen.

Alles das legte den Schluß nahe, daß unter gewissen Umständen ein Ferment Fermentoide bilden kann, die, analog den Bakterientoxoiden, der zymophoren Gruppe beraubt sind, d. h. keine spezifische Wirkung mehr entfalten; gleichzeitig aber durch die Intaktheit der Haftgruppe einerseits befähigt sind in anima vili spezische Antikörper zu bilden, andererseits letztere in vitro zu binden.

Schon auf dem Internationalen Kongreß in Paris stellte Ehrlich[15]) die Existenz solcher Fermentoide als sehr wahrscheinlich hin. Seine Voraussicht wurde tatsächlich durch eine Arbeit von Korschun[16]) aus dem Frankfurter Institut bestätigt, nachdem schon Bashford Untersuchungen in dieser Richtung angestellt hatte. Korschun fand, daß Labferment durch Erhitzen seines Vermögens: Milch zum Gerinnen zu bringen, verlustig geht; dabei aber nach wie vor imstande ist, das im normalen Pferdeserum enthaltene Antilab zu binden. Durch partielle Sättigung — nach der Ehrlichschen Methode — gelang es ihm, die reale Existenz von „Fermentoiden" in solchem erhitzten Lab nachzuweisen.

Bekanntlich bestehen die durch Injektion einer fremden Blutkörperchenart im Versuchstier erzeugten Hämolysine aus zwei wirksamen Prinzipien: dem Komplement (Cytase nach Metschnikoff) und dem Ambozeptor (Fixateur, Sensibilisatrice von Bordet). Davon ist das erstere nicht spezifisch und in jedem normalen Serum vorhanden. Das Komplement ist sehr fragil: eine viertelstündige Erwärmung auf 56° genügt, um sein Aktivierungsvermögen für Ambozeptor zu zerstören. Letzterer dagegen ist streng spezifisch, existiert nur im Immunserum und ist relativ hitzebeständig. Es gibt eine ganze Menge Argumente, durch die manche Forscher, wie Ehrlich, Bordet u. a., sich berechtigt glauben, dem Komplement die charakteristischen Eigenschaften eines Fermentes zuzuschreiben*) und sein Molekül durch eine thermolabile zymophore und eine thermostabile haptophore Atomgruppe konstituiert zu denken (Ehrlich). Erstere (z) besitzt die eigentlichen blutlösenden Eigenschaften; die zweite (h) dient der Verankerung an den Ambozeptor.

Fig. 17.

Die kompexe Molekularstruktur des Komplements, die wiederum sehr an die Eigentümlichkeiten der Toxinkonstitution

*) In einer Monographie des Verfassers: „La nutrition dans ses rapports avec l'immunité", Paris 1904 Masson, ist diese Ansicht ausführlich begründet.

erinnert, legt die Vermutung nahe, daß durch irgendwelche schädigende Einflüsse aus Komplementen „Komplementoide" entstehen können — Moleküle ohne zymophore Gruppe, die aber von Ambozeptoren fixiert werden können und im Organismus spezifische Antikörperbildung hervorrufen (Antikomplemente [Ehrlich und Morgenroth][17]). Versuche von Ehrlich, Morgenroth[18]) und Bordet[19]) bestätigen diese Voraussetzung insofern, als erhitztes Komplement — wie schon erwähnt — zwar nicht mehr hämolytisch ist, aber bei Injektion in einem artfremden Tiere Antikomplemente bildet. Das deutet darauf hin, daß eine Erwärmung auf 56° die Haftgruppe nicht beeinflußt. Dies wurde außerdem von Ehrlich und Sachs[20]) noch dadurch erwiesen, daß manchmal Komplementoid durch Besetzung der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors dessen Reaktivierung durch normales frisches Komplement verhindert.

Auch von Agglutininen und Präzipitinen gibt es toxoidale Modifikationen. Kraus und v. Pirquet[21]), Kraus und Joachim[22]), Eisenberg und Volk[23]), Shiga[24]) u. a. haben beobachtet, daß agglutinierende Sera, auf 70° erhitzt, die spezifische Häufchenbildung von Typhus, Cholera, B. dysenteriae Shiga etc. nicht mehr hervorrufen. Trotzdem hat ein derartiges erhitztes Serum die Eigenschaft, ebenso wie frisches von den Bakterienrezeptoren fixiert zu werden. Ja, es besitzt sie in noch höherem Maße: da in einem Gemisch von inaktiviertem und aktivem Agglutininserum und der betreffenden Bakterienart die Agglutination nicht erfolgt, muß man den Agglutinoiden eine größere, erhöhte Affinität ihrer haptophoren Gruppe für die Rezeptoren zuschreiben, als dem aktiven Agglutinin, und sie also, in Analogie mit den Protoxoiden des Diphtheriegiftes, als Protagglutinoide bezeichnen.

Andererseits beobachteten Müller[25]) und Eisenberg das Entstehen von Präzipitinoiden auf Kosten von Präzipitin, das durch Injektion von Tieren mit Milch oder artfremdem Serum gewonnen wurde. Müller stellte fest, daß Laktoserum (Milchkoagulierendes Serum) durch Erhitzen auf 70° inaktiv wird, aber gleichzeitig bemerkte er, daß es dadurch hemmende Eigenschaften für die Wirkung des aktiven Serums acquirierte. Durch eine sehr scharfsinnige Versuchsanordnung überzeugte er sich, daß diese Hemmung weder auf der Wirkung einer im Laktoserum präformierten, erst durch die höhere Temperatur wahrnehmbar gewordenen hemmenden Substanz, noch auf einem Einfluß des inaktivierten Serums auf Kalksalze, die im Gerinnungsprozeß eine wichtige Rolle spielen,

bedingt wird. Sie muß einfach so gedacht werden, daß beim Erhitzen des spezifischen Serums Propräzipitinoide auftreten, deren Plus an Avidität für das Angriffsobjekt sie befähigt, letzteres zum Nachteil des aktiven Prinzips zu okkupieren.

Die Umbildung von Präzipitin in Präzipitinoide bedingt also eine Erhöhung der Affinität ihrer haptophoren Gruppen für die betreffende Proteïnsubstanz, ganz wie es unter analogen Bedingungen mit den Agglutininen und ihren Derivaten der Fall ist. Damit findet die im vierten Kapitel aufgestellte Behauptung, daß der Verlust der toxophoren Gruppe quantitative Veränderungen der Affinität des Moleküls mit sich bringen könne, ihren Beweis.

Schließlich sei noch erwähnt, daß alle diese Tatsachen von Kraus[26]) anläßlich seiner Untersuchungen an den von ihm entdeckten Bakterienpräzipitinen in vollem Umfange bestätigt worden sind.

Literatur.

1) Jakoby, Hofmeisters Beitr. 1901, Bd. I, p. 51. — 2) Roemer, Arch. für Ophtalmolog. 1901, Bd. LII, p. 72. — 3) Myers, Trans. of the Pathol. Soc., London 1900, Vol. LI. — 4) Madsen, Zeitschr. für Hyg., Bd. XXXII, p. 214 und 239. — 5) Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. 1901, Bd. XLVIII, p. 697. — 6) Morgenroth, Centralbl. für Bakt. 1899, Bd. XXVI, No. 11 u. 12; idem 1900, Bd. XXVII, No. 20 u. 21. — 7) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, Leipzig 1903, Vogel. — 8) Röden, zitiert nach Hammarsten, Malys Jahresber. 1887, Bd. XVII. — 9) Hammarsten, idem. — 10) Hildebrandt, Virchows Arch. 1893, Bd. CXXXI, p. 5. — 11) von Dungern, Münch. med. Wochenschrift 1898. — 12) Morgenroth, siehe 6. — 13) Moll, Hofmeisters Beitr. 1902, Bd. II. — 14) Gessard, Ann. Instit. Past. 1901, p. 609 und Compt. rend. de la Soc. de Biolog., Mai 1902. — 15) Ehrlich, Rapport au Congrès internat. de medecine, Paris 1900, Section de microbiologie. — 16) Korschun, Zeitschr. für physiolog. Chem. 1902, Bd. XXXVI. — 17) Ehrlich u. Morgenroth, Arbeiten über Hämolysine, Berl. klin. Wochenschr. 1899, No. 1, p. 6; Berl. klin. Wochenschr. 1900, No. 21, 31; 1901 No. 10, 21 u. 22. — 18) Ehrlich u. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1900, No. 31. — 19) Bordet, Ann. Inst. Past. 1900. — 20) Ehrlich u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902, No. 21. — 21) Kraus, s. Kap. IV Lit. No. 6. — 22) Kraus u. Joachim, Centralbl. für Bakt., Bd. XXXVI, p. 662 und Bd. XXXVII, p. 71. — 23) Eisenberg u. Volk, Zeitschr. für Hyg. 1902, Bd. XL. 24) Shiga, Zeitschr. für Hyg. 1903. — 25) Müller, Centralbl. für Bakt. 1902, Bd. XXXVII, p. 7; 1903, Bd. XXXIV, No. 1; Arch. für Hyg. 1902, Bd. XLIV. 26) Kraus, siehe Kap. IV, Lit. No. 6.

Siebentes Kapitel.

Zusammenfassung.

Die stattliche Anzahl der auf dem Gebiete der Toxine, Fermente, Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine bisher zur Beobachtung gelangten Tatsachen gestattet Schlüsse zu formulieren, die das Wesen der Antikörperwirkung unter einem ganz bestimmten Gesichtswinkel erscheinen lassen. Wenn wir das bisher Gesagte nochmals kurz rekapitulieren wollen, werden wir uns vor allem der ebenso zahlreichen wie überzeugenden Versuche erinnern müssen, die den Beweis für die direkte, ohne Vermittlung lebender oder toter Zellen erfolgende, Wirkung eines Antitoxins auf das entsprechende Toxin erbracht haben. Weiter sahen wir, daß diese direkte Wirkung keine eigentlich zerstörende im strengen Sinne des Wortes genannt werden kann, daß sie vielmehr eine gegenseitige Neutralisierung der beiden Körper vorstellt. Dank einer mehr oder minder ausgeprägten Affinität vereinigt sich das Antitoxin mit seinem Toxin unter Bildung eines neuen unwirksamen Körpers, ähnlich wie Säure und Base bei ihrer Verbindung ein — neutrales — Salz bilden.

Die Regel, die diesen Zusammentritt von Gift und Gegengift beherrscht ist. nach Ehrlich, das „Gesetz der Multipla“ — dasselbe, dem auch die Reaktionen zwischen starken Säuren und Basen unterworfen sind. Ebenso wie n-Äquivalente einer starken Säure mit n-Äquivalenten einer starken Base sich vereinigen müssen, damit ein Mittelsalz entstehe, erfordern a-Moleküle Toxin a-Moleküle Antitoxin zu ihrer völligen Absättigung, d. h. zur Herstellung eines unwirksamen Gemisches.

Aufmerksames Studium der Neutralisationskonstanten L_+ und L_0 und eingehende Beobachtung des Verlaufs der Antitoxinwirkung förderten jedoch einige an sich unleugbare Tatsachen zutage, die auf den ersten Blick jenem Gesetz zu widersprechen schienen. Beispielsweise stellte es sich heraus, daß die ersten

Partien einer IE (Immunitätseinheit), die einer gegebenen Giftdosis zugesetzt wurden, bedeutend mehr Toxin neutralisierten, als die nachfolgenden Fraktionen, so daß, wenn eine gewisse Menge Antitoxin die Giftigkeit des Toxins beispielsweise auf die Hälfte reduziert hatte, die späteren Dosen dies in einem wesentlich geringeren Verhältnisse taten. Andererseits machte man bald die Entdeckung, daß der Unterschied im Gesamtgiftgehalt zwischen einer einfach-toxischen (tödlichen) Mischung (L_+) und einem neutralen Gemisch (L_0) nicht die einfache tödliche Dosis beträgt, wie nach dem Gesetz der Multipla erwartet werden muß, sondern ein Vielfaches dieser Giftmenge. Zwischen den beiden Grenzwerten L_+ und L_0 existiert eine breite Zone, die intermediäre oder Toxonzone, deren physiologische Charakteristika sie deutlich von dem echten Diphtherietoxin (um solches handelte es sich zunächst) unterscheiden. Endlich bemerkte man, daß das Toxin im Laufe der Zeit wesentlich an Giftigkeit einbüßt, sich abschwächt; daß aber seine Neutralisationskonstanten nichtsdestoweniger gar nicht oder nur sehr wenig sich ändern.

Soviel Tatsachen, soviel scheinbare Ausnahmen vom Gesetz der Multipla! Ihre plausible Erklärung ward erst in dem Augenblick gegeben, wo Ehrlich mit der Lehre von der komplexen Konstitution der Bakteriensekrete auftrat. Wir haben die Überlegungen kennen gelernt, die schon a priori im Sekretionsprodukt einer Bakterienkultur ein Gemisch im chemischen Sinne erwarten lassen. Schon danach war die Existenz anderer Körper neben dem Toxin in solchen Kulturen sehr wahrscheinlich, um so mehr, wenn man die Leichtigkeit in Betracht zog, mit der das Vorhandensein und die Mitwirkung solcher Nebenprodukte (der Toxoide und Toxone), die erwähnten scheinbaren Ausnahmen von der supponierten Gesetzmäßigkeit der Antitoxinreaktionen deuten läßt. Die im Ideengang der Ehrlichschen Theorie sich bewegende Auffassung einer Abschwächung der Toxine durch allmähliche Umwandlung in Toxoide infolge Verlustes der toxophoren Gruppe erscheint noch mehr berechtigt, wenn man die große Anzahl von anderen Bakteriengiften, Toxalbuminen und Antikörpern im allgemeinen (Agglutininen, Präzipitinen etc. etc.) in Betracht zieht, an deren Konstitution allem Anscheine nach Moleküle beteiligt sind, deren Bindungsgruppe intakt ist, die aber ihren spezifischen (toxophoren, agglutinophoren, präzipitogenen) Atomkomplex verloren haben.

Nach alledem ist jedes Bakteriengift, das seine spontane Abschwächung mehr oder minder hinter sich hat, einem Gemisch mehrerer verschieden starker Säuren vergleichbar, die also

verschieden große Affinitäten Basen gegenüber besitzen. Fügt man einem derartigen Gemisch steigende Mengen eines Alkali zu, so werden zuerst die starken Säuren neutralisiert, später erst die schwächeren. Ebenso beginnt in einem Toxine, Toxoide und Toxone enthaltenden Kulturfiltrat die Antitoxinwirkung durch Neutralisierung derjenigen Moleküle, deren Affinität für den Antikörper stärker ist, als die aller übrigen. Dieser Prozeß unterliegt also vollständig dem Gesetz der Multipla, nur ist die Gesetzmäßigkeit durch die Beteiligung verschiedenartiger, mit ungleichem Bindungsvermögen versehener, Moleküle verschleiert. Daher jene paradoxalen Befunde, die ihre Urheber auf den ersten Blick befremdeten, deren Richtigkeit nun aber, auch von der theoretischen Seite, nicht mehr angezweifelt zu werden braucht.

Wenn wir uns im folgenden auf das am besten studierte Diphtheriegift beschränken, haben wir nach Ehrlich vor allem zweierlei Sekretionsprodukte des Löfflerschen Bazillus zu unterscheiden: Toxine und Toxone. Letztere zeichnen sich den Toxinen gegenüber durch schwächere Affinität für Antitoxin einerseits, anderseits durch die Lähmungen erzeugende Wirkung auf den Tierkörper aus. Die Toxine können ihrerseits in drei Kategorien getrennt werden: Proto-, Deutero- und Tritotoxine, nach ihrer abnehmenden Bindungsfähigkeit. Jede dieser Toxinarten tritt in zwei Modifikationen α und β auf, die in ungleicher Weise zur Entstehung von Toxoiden Veranlassung geben. Das α-Gift ist dasjenige, das dieser Umwandlung zuerst unterliegt, d. h. seine toxophoren Gruppen sind labiler, als die der β-Form. Ehrlich erklärt diesen Unterschied der Widerstandsfähigkeit, bei sonst gleichen Eigenschaften, durch zwei verschiedene Arten der Atomanordnung in den betreffenden Komplexen: die beiden Giftformen verhalten sich zueinander wie zwei stereochemische Isomeren, von denen ja seit den Untersuchungen Pasteurs und Emil Fischers bekannt ist, daß sie sich destruktiven Einflüssen gegenüber ganz verschieden verhalten können. Es sei daran erinnert, daß die β-Modifikation des Prototoxins am spätesten Toxoide bildet und daß dies das Finale der spontanen Veränderungen und Umwandlungen ist, die ein Diphtherietoxin durchmacht.

Unter den mannigfachen biologischen Gebilden, deren Vorhandensein in einer Bakterienkultur etwa erwartet werden könnte, sind es die Toxone und Prototoxoide, die sich am häufigsten in anderen als Diphtheriekulturen haben nachweisen lassen. Wir haben mit Madsen, mit Neißer und Weehsberg die Prototoxoide des Staphylo- und des Tetanolysins kennen gelernt; wir haben

uns andererseits an der Hand der Untersuchungen von Kraus, Müller, Eisenberg und Volk, Shiga etc. etc. überzeugen können, daß gewisse Immunsubstanzen, wie Agglutinine, Präzipitine usw. unter geeigneten Bedingungen den Prototoxoiden analoge Körper bilden, die sich mit denselben Methoden nachweisen lassen, wie jene. Es handelt sich hier demnach um eine auf diesem Gebiet der Forschung allgemein verbreitete Tatsache von allgemeiner Bedeutung.

Das wichtige Schlußergebnis, zu dem wir auf dem beschrittenen Wege gelangen, ist also, daß das Verhalten von Antitoxin zu Toxin vom Gesetz der Multipla beherrscht wird und daß durch die Annahme einer komplexen Toxinstruktur die im Laufe der Zeit gemachten Beobachtungen, die etwa mit diesem Gesetz unvereinbar schienen, nun im Gegenteil als sein unmittelbarer Ausfluß aufgefaßt werden können*).

So lag die Frage der Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin, als eine ganze Gruppe von Gelehrten, mit Arrhenius und Madsen an der Spitze, auftrat, um in den festen Bau Ehrlichscher Ideen Bresche zu legen. Ohne die Exaktheit seiner experimentellen Resultate anzuzweifeln, erhoben sich diese Forscher besonders gegen deren Deutung.

Ihr Angriff richtet sich zunächst gegen die Gültigkeit des Gesetzes der Multipla und damit gegen die komplexe Konstitution der Toxine. Nach Arrhenius und Madsen liefern uns Beobachtungen auf physikalisch-chemischem Gebiete, namentlich

*) Ehe wir den ersten Teil unserer Betrachtungen schließen, sei noch erwähnt, daß einige Autoren, insbesondere Bomstein[1]), in der Tatsache, daß zur Neutralisierung eines Multiplums einer tödlichen Giftdosis bedeutend mehr Antikörper nötig ist, als nach dem Gesetz der Multipla der Fall sein müßte, einen Beweis gegen die Gültigkeit desselben zu sehen glaubten. Eine eingehende Analyse dieser Frage durch Cobbett und Kanthack[2]) hat gezeigt, daß der gemachte Einwand hinfällig ist. Es kommt, nach den zuletzt genannten Forschern, häufig vor, daß sich bei der Wertbestimmung eines Toxins Fehler einschleichen, wenn man als Ausgangspunkt die einfache Giftdosis (1 DL) wählt — Fehler in dem Sinne, daß nach vollendeter Absättigung durch Antitoxin im L_0-Gemisch Spuren freien Toxins übrig bleiben, die — da sie ja nur minimale Bruchteile von 1 DL darstellen — im Versuchstier unwirksam bleiben müssen. Mit anderen Worten, daß das gefundene L_0 eine zu hohe Giftmenge enthält und nur scheinbar neutral ist. Der Fehler tritt aber natürlich sofort zutage, wenn man das Vielfache der Dosis mit dem Multiplum der — ungenügenden — Antitoxinmenge appliziert. Es genügt vollkommen, von vornherein als Ausgangspunkt nicht eine, sondern etwa 10 DL zu nehmen, um sich zu überzeugen, daß in einem neutralen Gemisch, ganz unabhängig von den absoluten Zahlen seiner Komponenten, das einmal festgestellte Verhältnis zwischen ihnen unverändert bleibt.

die Art der Wirkung schwacher Säuren auf schwache Basen, genügendes Material für eine ganz andere Auffassung der Antitoxinwirkung, die uns gestattet, ohne die Hypothese der „Komplexität“ auszukommen. Das Guldberg-Wagesche Massengesetz, das chemische Gleichgewicht der an der Reaktion beteiligten Körper, genügt den zitierten Autoren vollständig zu einer einfachen und mit Vorgängen auf rein chemischem Territorium übereinstimmenden Erklärung der fraglichen Erscheinungen.

Wir werden im zweiten Teil dieser Arbeit Gelegenheit haben zu sehen, inwiefern die Untersuchungen von Arrhenius und Madsen die Ehrlichsche Auffassung zu erschüttern imstande sind.

Literatur.

1) Bomstein, zitiert nach Oppenheimer, Toxine und Antitoxine, Jena, Fischer 1904.

2) Cobbett u. Kanthack, Cbl. für Bakt., 1898, Bd. XXIV.

Zweiter Teil.

Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin nach den Anschauungen der physikalischen Chemie.

Achtes Kapitel.

Allgemeines.

Gestützt auf einige allgemeine Lehrsätze der physikalischen Chemie, haben Arrhenius und Madsen in einer grundlegenden Arbeit versucht, die Wechselwirkungen von Toxin und Antitoxin auf höchst einfache Weise zu erklären. Die Prüfung der von Ehrlich und seinen Schülern, u. a. von Madsen selbst zutage geförderten Tatsachen: der Ablauf des Sättigungsprozesses im großen Ganzen, die Existenz der sogenannten Toxonzone, der Umstand, daß die ersten einem Toxinquantum zugesetzten Antitoxinfraktionen bedeuteud mehr Äquivalente binden, als die Theorie voraussetzt, führte, an der Hand eigener Versuchsergebnisse, die genannten Forscher dazu, die Toxin-Antitoxinreaktion durch eine Hyperbel darzustellen, deren Schenkel in die Koordinaten übergehen. Daraus wäre der Schluß zu ziehen, daß auch für relativ große Antitoxinmengen die Sättigung mit Toxin nie ganz vollständig sei, daß folglich in angeblich neutralen Gemischen stets gewisse Mengen Gift und Gegengift frei blieben. Die pathogene (Toxon-)Wirkung der zwischen L_0 und L_+ liegenden Mischungen, die dem einen Ende der Kurve entsprechen, wäre demnach durchaus nicht einem besonderen toxischen Prinzip, den Toxonen Ehrlichs, zuzuschreiben, sondern auf das Konto dieser kleinen und kleinsten Mengen freien Toxins zu setzen. Außerdem ließen sich die von Ehrlich beobachteten Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Antitoxinreaktion aus dem von Arrhenius und Madsen vor-

ausgesetzten Mechanismus dieser Reaktion heraus und ohne Mithilfe von Toxoiden erklären.

Zur Deutung der Verlangsamung, die zu Ende des Neutralisationsprozesses auftritt und in den Eigentümlichkeiten ihrer Kurve zum Ausdruck gelangt, nehmen Arrhenius und Madsen an, daß der in Frage stehende Vorgang von dem Guldberg-Wageschen Massenwirkungsgesetz beherrscht wird und folglich umkehrbar (reversibel) ist. Sie vergleichen Toxin und Antitoxin mit schwachen Säuren und Basen, deren Vereinigung zu Salzen genau die gleiche Kurve bildet und denselben Gesetzen unterworfen ist.

Wir stehen damit einer zweiten Anschauung gegenüber, die nur in einigen Punkten von der Ehrlichschen abweicht. Beide Hypothesen erklären die Wirkung des Antitoxins auf Toxin für eine direkte, sozusagen unmittelbare, zu deren Zustandekommen die Mitwirkung von lebenden Zellen keineswegs nötig sei. Ebenso ist beiden die Vorstellung gemeinsam, daß der Prozeß ein rein physikalisch-chemischer Vorgang sei und sein Analogon auf dem Gebiete der Chemie uns bekannter Körper haben müsse. Die Hauptfrage, in der die beiden Konzeptionen voneinander abweichen, ist die des Gesetzes, das über den Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin waltet, und der sich daraus ergebenden Konsequenzen: ungemeine Kompliziertheit oder höchste, sozusagen ideale, Einfachheit der Konstitution der Bakteriensekrete. Im folgenden werden wir Gelegenheit haben, zu sehen, wie weit diese oder jene Theorie den durch unbefangene Beobachtung gewonnenen Befunden entspricht.

Der von Arrhenius und Madsen ausgesprochene Gedanke, daß es nämlich richtiger wäre, zum Vergleich mit der Toxin-Antitoxinreaktion einfache Körper heranzuziehen, deren chemische Konstitution bekannt ist, war nicht neu. Er liegt in der Tat einer Arbeit von Danysz [1]) zugrunde, die die älteste in dieser Richtung ist und die bei ihrer Bedeutung nicht mit Stillschweigen übergangen werden kann.

Danysz geht von der von Ehrlich festgestellten Tatsache aus, daß die Wirkung eines beispielsweise hundertfach verdünnten Toxins mit der eines im selben Maße abgeschwächten Giftes nicht übereinstimme. Es ist uns nach dem in den voraufgehenden Kapiteln Gesagten bekannt, daß abgeschwächte Toxine ihr Bindungsvermögen für den entsprechenden Antikörper fast unvermindert bewahren, was bei Verdünnungen natürlich nicht der Fall ist. Das erklärt sich nach Ehrlich durch die Entstehung

von Toxoiden auf Kosten der Toxinmoleküle, die dabei ihrer toxophoren Gruppe verlustig gehen. Danysz behauptet nun, daß die physiologische Differenz zwischen abgeschwächten und verdünntem Toxin nicht auf der hypothetischen toxoidalen Umwandlung von Giftmolekülen in ersterem Falle, sondern durch Änderung ihres Verhältnisses zu den Salzen des Nährbodens, namentlich den Phosphaten, im zweiten Falle, bei der Verdünnung, beruhe.

Es sei ein Toxin gegeben, von dem 1 ccm 100 Moleküle des reinen Giftes enthält: 1 ccm = 100 T. Wenn man die Menge der noch außerdem in der Lösung befindlichen Stoffe mit m bezeichnet, so stellt $\frac{m}{T}$ das gegenseitige Verhältnis der aktiven und inaktiven Bestandteile überhaupt dar; und in unserem Falle wird dieses Verhältnis für jeden Kubikzentimeter Lösung $\frac{m}{100\,T}$ sein. Unterliegt das Gift einer 100fachen Abschwächung, wobei also von 100 aktiven Molekülen nur eins intakt bleibt, so ändert sich das Verhältnis und wird: $\frac{m}{T}$. Dagegen ist bei 100facher Verdünnung des Giftes das Verhältnis zwischen der Zahl der Toxinmoleküle und der Menge indifferenter Stoffe im Kubikcentimeter: $\frac{m/_{100}}{T}$.

Die Quotienten sind also für beide Fälle verschiedene. Es genügt, sagt Danysz, anzunehmen, daß die pathogene Wirkung eines Toxinmoleküls nicht ausschließlich von seiner Anwesenheit überhaupt, sondern auch von seinem quantitativen Verhältnis zu der Größe m abhängig sei, um einzusehen, daß das Toxinmolekül in $\frac{m}{T}$ (Abschwächung) und das in $\frac{m/_{100}}{T}$ (Verdünnung) ganz verschiedene Wirkungen entfalten müssen. Weiterhin, wenn der Giftigkeitswert eines auf's 100fache abgeschwächten Toxins nach dieser Begriffsbestimmung ein anderer ist, als der des frischen, so liegt das nicht daran, daß von 100 T im Kubikzentimeter 99 in Toxoide übergeführt worden sind, sondern daran, daß der Quotient $\frac{m}{100\,T}$ auf $\frac{m}{T}$ gewachsen ist.

Zur experimentellen Begründung dieser Hypothese wählt Danysz einen chemisch einfachen, hämolytisch wirkenden Körper —

das Ammoniak, und als Antikörper — Schwefelsäure. Setzt man zu einer hämolysierenden Ammoniaklösung steigende Mengen H_2SO_4, so sinkt das Blutlösungsvermögen der Flüssigkeit proportional diesen Mengen, d. h. im Verhältnis zur Menge der gebundenen, resp. freigebliebenen Base. Besagt z. B. der mittelst Phenolphthaleïn festgestellte Titre einer unvollständig neutralisierten Lösung, daß darin noch 1,2 . . . . n lösende Dosen NH_3 frei sind, so stimmt der tatsächliche hämolytische Wert solcher Gemische damit durchaus überein: der Grad der Hämolyse ist proportional der Menge des ungebundenen Ammoniaks.

Dieser Versuch gelingt in der beschriebenen Weise jedoch nur in einem phosphatfreien Milieu. Stellt man ihn mit Bouillon oder physiol. Kochsalzlösung, die Phosphorsalze erhält, als Lösungsmittel an, so verläuft er in ganz anderer Weise. Wählt man z. B. Bouillon, so zeigt ein Gemisch, das, bei Titrierung mit Phenolphthaleïn noch zehn freie hämolytische Dosen NH_3 enthält, tatsächlich nur das Blutlösungsvermögen einer Dose reinen Ammoniaks.

Danysz schließt hieraus, daß Phosphate den hämolytischen Wert der in einer Mischung von NH_3 und H_2SO_4 nicht neutralisierten Base in auffallender Weise herabsetzen. Wird doch durch die Anwesenheit dieser Salze ein großer Teil des nicht an Antitoxin (Säure) gebundenen Hämolysins (Base) von der Hämolyse ausgeschlossen, da unter diesen Umständen 10 und mehr freie NH_3-Dosen dieselbe Wirkung entfalten, wie eine Dose reinen Ammoniaks.

Hierin liegt eine gewisse Ähnlichkeit mit der von Ehrlich gemachten Beobachtung, daß zur Umwandlung von L_0 in L_+ stets mehr als eine DL erforderlich ist. Diese Analogie der hämolytischen Wirkung durch H_2SO_4 unvollständig gesättigten Ammoniaks mit dem Ablauf der Neutralisation von Toxin durch Antitoxin wird noch frappanter, wenn man die Kurven vergleicht, die beiden Vorgängen entsprechen. Stellen wir die Hämolyse durch reines Ammoniak einerseits und durch NH_3—H_2SO_4-Gemische, die Phosphate enthalten, andererseits graphisch dar, so erhalten wir im ersten Falle eine von links nach rechts von der Abscisse aufsteigende Gerade; im zweiten — eine Zickzacklinie (Danysz). Man hat den Eindruck, als erfolge von Zeit zu Zeit eine Art Paralyse der hämolytischen Ammoniakwirkung durch das Phosphat, die mit einem ruckweisen Ansteigen dieser Wirkung abwechselt. Dadurch erinnert die erhaltene Kurve einigermaßen an die von Ehrlich für das Diphtheriegift konstruierten „Spektra".

Dieser eigentümlich unregelmäßige Verlauf der Hämolyse durch unvollkommen abgesättigtes Ammoniak läßt sich nach Danysz einzig und allein durch den Faktor $\frac{m}{T}$ erklären, der sich bei den Versuchen kontinuierlich verändert. Genau das gleiche ist aber — wie man schon bemerkt haben wird — bei den früher zitierten Versuchen mit Diphtherietoxin der Fall. Es liegt also nahe, in der Ammoniakhämolyse einerseits und den Toxin-Antitoxinreaktionen andererseits gleichartige Vorgänge zu sehen (Danysz).

Summa summarum ist diese Hypothese bemüht, die von Ehrlich im Laufe seiner Toxinforschungen etablierten Paradoxen der Antitoxinwirkung so zu interpretieren, daß es nicht notwendig ist, die Bildung von Toxoiden und die ihr zugrunde liegende Annahme zweier funktionell distinkter Atomgruppen im Toxinmolekül zur Erklärung heranzuziehen. Es genügt vielmehr die Voraussetzung, daß die Wirkung des Toxins durch andere Bestandteile der Lösung, namentlich Phosphate, in Intensität und Qualität wahrscheinlich beeinflußt wird. Das Verhältnis der beiden Faktoren Gift und Salz ändert sich bei Anwendung verschieden starker Lösungen einerseits und beim Altern des Toxins andererseits. Im letzteren Falle können die bei der Bestimmung der Neutralisationskonstanten feststellbaren Unterschiede gegenüber dem frischen Gift sehr wohl durch die im Laufe der Zeit eintretenden fundamentalen Änderungen der Salzkonzentration des Mileus bedingt sein, die, ohne eine direkte Wirkung auf das Toxinmolekül mit Bildung von Toxoiden hervorzurufen, trotzdem auf den Intoxikationsprozeß, wie aus obigem hervorgeht, einen Einfluß ausübt.

Leider stehen dieser überaus einfachen Hypothese mancherlei wichtige Einwände gegenüber. Wir haben im ersten Teile dieser Ausführungen gesehen, daß die Annahme von Toxoiden eine allgemeine Bedeutung besitzt; daß ihre Existenz, außer für Diphtherietoxin, noch für eine große Anzahl anderer Bakteriengifte, für Tetanolysin, Staphylolysin, Schlangengift, für Antikörper im allgemeinen: Präzipitine, Agglutinine usw. als bewiesen gelten kann. Bezieht man also, wie das Danysz tut, die Abschwächung des Diphtherietoxins auf Änderungen der relativen Salzkonzentration, so wird man zur Annahme gezwungen, daß derselbe Umstand ein ganz andersartiges Gift, wie z. B. das Tetano- oder Staphylolysin, in genau der gleichen Weise beeinflußt. Das bietet große Schwierigkeiten, wenn man bedenkt, daß Diphtherietoxin nur im lebenden Organismus wirkt, das von Staphylococcus aur.

sezernierte Gift lediglich gewisse Erythrocytenarten im Reagenzglase schädigt usw. Wie noch erinnerlich sein wird, haben vergleichende Untersuchungen über Reaktionen frischer und inaktivierter (erhitzter) Komplemente, Präzipitine, Agglutinine, und andererseits Versuche mit Fermenten und Toxalbuminen zu der Anschauung geführt, daß alle diese Körper unter gewissen Bedingungen den Toxoiden analoge Modifikationen eingehen. Da fragt man sich vergeblich, ob die Anwesenheit von Phosphorsalzen die mit diesen Stoffen nichtbakteriellen Ursprungs angestellten Reaktionen so beeinflussen könne, daß die spezifischen Wirkungen geändert und die Existenz toxoidaler Formen, im Sinne Ehrlichs, vorgetäuscht wird.

Muß somit die Danyszsche Erklärung als Gegenbeweis der Ehrlichschen Anschauung abgelehnt werden, so sind nichtsdestoweniger die Versuche, die ihr zugrunde liegen, von erstklassiger Bedeutung. Denn sie zeigen, daß die Toxin-Antitoxinreaktionen eine große Ähnlichkeit mit der Absättigung einer schwachen Base durch Säuren, gemessen am hämolytischen Werte des Gemisches, darbieten, daß beide Reaktionskurven im großen Ganzen sich decken. Diese Tatsache ist es, die die Grundlage für die Arbeiten von Arrhenius und Madsen abgegeben hat — Untersuchungen, die aus der neuesten Zeit stammen, theoretisch ausgezeichnet motiviert sind und deren Analyse das nächste Kapitel gewidmet ist.

Literatur.

1) Danysz, Ann. Inst. Pasteur, Bd. XIII, p. 581.

Neuntes Kapitel.

Die Reversibilität der Toxin-Antitoxinreaktion.

Schon in der voraufgehenden Arbeit Danysz' finden sich Hinweise auf den reversiblen Charakter der zwischen Toxin und Antitoxin sich abspielenden Reaktionen. Aber nirgends gehen sie über den Rahmen von Vermutungen hinaus, und der Verfasser selbst scheint der ganzen Frage keine allzugroße Bedeutung beizumessen. Ganz im Gegensatz hierzu nimmt diese Reversibilität in den Untersuchungen von Arrhenius und Madsen den Mittelpunkt ein, um den sich alles dreht; die Schlüsse, zu denen die Autoren gelangen, wurzeln vor allem in der Erkenntnis, daß der Vorgang der Toxinbindung durch Antikörper umkehrbar sei.

Die experimentellen Tatsachen, die Arrhenius und Madsen als Grundlage ihrer Hypothese dienen, gehören zwei Gruppen an: auf der einen Seite sind es Untersuchungen über Hämolyse (durch Ammoniak und Tetanolysin), auf der anderen solche über die Wechselwirkung von Toxin und Antitoxin.

a) Untersuchungen über Hämolyse[1]).

Diese Versuche stellen eine vergleichende Wertbestimmung der hämolytischen Wirkung von Tetanolysin einerseits und Ammoniak (in $^1/_{20}$ Normallösung) andererseits dar. Als Indikator benutzen Arrhenius und Madsen regelmäßig 10 ccm einer 2,5 proz. Aufschwemmung von Kaninchenerythrocyten in isotonischer Kochsalz- oder Zuckerlösung. Vor allem stellen sie fest, daß, wenn man irgend ein Hämolysin mit Blut zusammenbringt, ein Teil des ersteren von den Blutzellen absorbiert wird, und daß nur der in Lösung zurückbleibende Rest für die eigentliche Hämolyse in Betracht kommt.

Die erste Arrhenius-Madsensche Versuchsreihe betrifft die Unterschiede in der Intensität b der Hämolyse durch steigende Dosen des Giftes a (Ammoniak, Lysin).

Tabelle V (nach Arrhenius und Madsen).

	Tetanolysin		Ammoniak	
a	b	c	b	c
1,0	45	0,91	65	0,84
0,8	25	0,74	55	0,67
0,6	14	0,57	37	0,50
0,5	7	0,48	27	0,40
0,45	6	0,43	26	0.36
0,4	3,5	0,38	12	0,31
0,35	4	0.34	6	0,27
0,3	2,5	0,29	5	0,22

Diese Tabelle zeigt, daß das gelöste Blutquantum mit der Menge des verwendeten Giftes steigt und daß diese Zunahme dem Quadrat der Konzentration c*) des betreffenden lytischen Prinzips in der Gesamtlösung proportional ist. Arrhenius und Madsen drücken dieses Gesetz durch die Formel

$$(1)\quad b = K c^2$$

aus, wo b die Stärke der Hämolyse (in %), c die Konzentration und K eine Konstante für jedes Gift vorstellt. Aus obiger Gleichung (1) geht hervor:

$$\frac{b}{c^2} = K \text{ und}$$

$$K = \frac{\sqrt{b}}{c}.$$

Die Rechnung ergibt nun auf Grund der mitgeteilten Tabelle, daß das Verhältnis zwischen der Quadratwurzel aus der die Stärke der Hämolyse ausdrückenden Zahl b und der Giftkonzentration c bei allen Werten der letzteren dasselbe bleibt, daß, mit anderen Worten, K tatsächlich eine konstante Größe ist. Für das Tetanolysin z. B. gleicht $K = 6{,}1$.

Aus diesen ersten Versuchen von Arrhenius und Madsen scheint hervorzugehen, daß zwischen der durch bakterielles

*) Diese Konzentration wird durch den Quotienten $\frac{10\,a}{10 + a}$ bestimmt: sie ist proportiual der Menge des Lysins in der Gesamtlösung und umgekehrt proportional dem Volumen desselben, also $c = \frac{10\,a}{10 + a}$. Das gilt für das Tetanolysin; für die Hämolyse durch NH_3 gilt dieselbe Formel (1), wenn man $c = \frac{10\,(a - 0{,}075)}{10 + a}$ setzt.

Blutgift (Tetanolysin) bedingten Hämolyse und der durch einen anorganischen, wohlbekannten Körper (NH_3) herbeigeführten eine große Ähnlichkeit insofern besteht, als beide Prozesse einem und demselben Gesetz unterworfen sind, das aus dem Verhältnis zwischen der Konzentration der wirksamen Lösung und dem Grad der Hämolyse abzuleiten ist und hier wie dort den Vorgang beherrscht.

In einer weiteren Serie von Experimenten behandeln die genannten Forscher die Schnelligkeit, mit der die Hämolyse erfolgt und den Einfluß der Temperatur auf diese Größe*). Es gelang ihnen, auch hierfür eine Formel zu finden, die in allen untersuchten Fällen anwendbar war.

Schließlich stellten sie fest, daß bei der Hämolyse durch Basen, besonders NH_3 und NaOH der Austritt des Blutfarbstoffes nicht ausschließlich auf Ionwirkung beruht, sondern daß dabei auch die nichtdissoziierten Moleküle beteiligt sind.

Die im Laufe aller dieser Untersuchungen zutage getretene, sehr weitgehende Analogie zwischen der Art der cytotoxischen Wirkung gewisser Bakterienprodukte auf der einen Seite und chemisch einfacher Körper andererseits, brachte Arrhenius und Madsen auf den schon von Danysz angeregten Gedanken, daß mit Hilfe von Antikörperreaktionen an ganz bekannten Stoffen einiges Licht in das über die Vorgänge zwischen Toxin und Antitoxin herrschende Dunkel hineinzutragen wäre. Die Ausführung dieser Idee führte nun an der Hand folgender Beobachtungen zur Aufstellung des Reversibilitätsprinzips für jene Vorgänge.

b) Die Umkehrbarkeit der Toxin-Antitoxinreaktion.

1. Allgemeine Betrachtungen.

Die Chemie kennt seit langem sogenannte reversible Reaktionen, die sich dadurch auszeichnen, daß der oder die Verbindungen, die dabei entstehen, ihrerseits nach und nach in diejenigen Körper zerfallen, aus deren Vereinigung sie hervorgegangen waren (Dissoziation). Diese Art Reaktionen bedingen

*) Neuerdings sind ähnliche Untersuchungen mit verschiedenen Alkalien, Streptocolysin, Ricin, Präcipitin, Tetanolysin, gewissen Säuren, Schlangengift etc. etc. von Madsen und Walbum[2]) und von Madsen und Noguchi[3]) angestellt worden. Sie führten alle zu demselben Resultate, wie die ursprünglichen Versuche von Arrhenius und Madsen und gestatteten die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur ebenfalls durch eine Formel auszudrücken.

schließlich einen „chemischen Gleichgewichtszustand“ der reagierenden Substanzen, den Ostwald folgendermaßen definiert: „Les conditions d'équilibre chimique peuvent être définies en disant que la proportion de chaque substance qui se forme dans un temps donné, est égale à la portion de cette substance qui est décomposée dans le même temps; la quantité reste donc invariable“[4]).

Es sei p die Menge einer bestimmten Kombination, die unter gewissen Umständen in eine andere — p′ — übergeht[5]). Nach dem Massenwirkungsgesetz ist die Geschwindigkeit der Umwandlung proportional der Menge der noch nicht in Reaktion getretenen Substanz. Wenn an dem Zeitpunkt t der Reaktion die bereits umgewandelte Menge von p gleich x ist, so beträgt also die Geschwindigkeit zu dieser Zeit

$$u = c\ (p - x)$$

wo c einen gewissen, für jede chemische Reaktion besonderen Geschwindigkeitskonstante vorstellt.

Zur selben Zeit ist natürlich die Masse des Reaktionsproduktes p′ um x größer geworden. Ist der Vorgang reversibel, d. h. geht p′ wieder in p über, so wird die Geschwindigkeit dieser umgekehrten Reaktion proportional dieser Menge sein,

$$u_1 = c'(p' + x).$$

Erreicht im Verlaufe der Reaktion x eine bestimmte Größe z, so werden die beiden nach entgegengesetzten Seiten wirkenden Geschwindigkeiten gleich.

$$u = u_1.$$

In diesem Moment tritt das chemische Gleichgewicht ein, da die in der Zeiteinheit zu p′ werdende Menge von p dieselbe ist, wie die aus jenem sich gewissermaßen wieder zurückwandelnde Menge des letzteren. Nachstehende Formel bringt das zum Ausdruck:

$$c(p - z) = c'(p' + z),$$

woraus

$$\frac{c}{c'} = \frac{p' + z}{p - z}$$

Man kann dies auch so ausdrücken (Ostwald): „Quand une substance se transforme en une autre, la réaction étant réversible, l'équilibre est établi lorsque les deux substances sont dans un rapport défini, égal à l'inverse des coefficients de vitesse.“

In dem von uns angenommenen einfachsten Falle handelte es sich um die Umwandlung nur eines Prinzips in ein anderes. Es fragt sich nun, was geschieht, wenn an der Reaktion ein System von zwei oder mehr Körpern beteiligt ist? Wenn p und q zwei Verbindungen vorstellen, die aufeinander unter Bildung

von p′ und q′ als Reaktionsprodukte, einwirken, so ist nach dem Massenwirkungsgesetz in einem bestimmten Moment t die Reaktionsgeschwindigkeit

$$u = c\ (p - x)\ (q - x)$$

wo x die bereits zu p′ und q′ umgewandelte Menge von p und q bedeutet. Desgleichen ist die Schnelligkeit des umgekehrten Vorgangs

$$u_1' = c'\ (p' + x)\ (q' + x)$$

Auch hier tritt der Gleichgewichtszustand ein, wenn $u = u_1$ ist. Man erhält auf diese Weise eine Formel, die das Gleichgewicht eines reversiblen Systems zweier verschiedener Körper ausdrückt:

$$c\,(p - x)\ (q - x) = c'\,(p' + x(\ (q' + x)$$

oder für den Fall, daß das Gleichgewicht bei einer bekannten Größe z von x eintritt:

$$c\,(p - z)\ (q - z) = c'\,(p' + z)\ (q' + z)\ ^*).$$

Zu den chemischen Reaktionen mit ausgesprochen reversiblem Charakter, die dieses sogenannte Guldberg-Wagesche Gesetz befolgen, gehört z. B. die Verbindung der Salzsäure mit schwefelsaurem Natron nach der Formel:

$$Na_2SO_4 + 2\,HCl \rightleftarrows 2\,NaCl + H_2SO_4$$

Desgleichen die Bildung von Äthylacetat aus Äthylalkohol und Essigsäure:

$$C_2H_5OH + CH_3COOH \rightleftarrows CH_3COO \cdot C_2H_5 + H_2O$$

Möglichst einfach gefaßt, können wir das Gesetzmäßige an einer reversiblen Reaktion so ausdrücken:

Das Zusammentreten zweier Körper, die überhaupt fähig sind aufeinander einzuwirken, führt in erster Linie zur Entstehung einer oder mehrerer neuer Verbindungen. Gleichzeitig zerfällt aber ein Teil der letzteren in die primären Reagentien, so daß in einem solchen System zwei einander entgegengesetzte Reaktionen ablaufen. Das Gleichgewicht tritt dann ein, wenn sich beide Prozesse die Wage halten, d. h. wenn in der Zeiteinheit ebensoviel Produkt gebildet wird, wie zerfällt.

Daraus geht hervor, daß, wenn eine solche reversible Reaktion zwischen zwei Körpern A und B unter Bildung eines dritten C stattfindet, sie eigentlich nie als beendet betrachtet werden kann, da, nach dem Gesagten, stets aus C wieder A und B zurückgebildet werden, die dann von neuem sich verbinden. Ebenso erhellt es, daß, nach Eintritt des Gleichgewichtszustandes

*) Diese Gleichung wurde von Guldberg u. Wage im Jahre 1867 aufgestellt.

neben dem Reaktionsprodukt stets gewisse Mengen von A und B frei vorhanden sein müssen. Die graphische Darstellung ergibt für den Fall z. B., daß B durch wachsende Dosen von A abgesättigt werden soll, eine Kurve, die nie die Abzsisse erreicht.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen kommen wir zu den Beziehungen, die nach Arrhenius und Madsen zwischen chemisch bekannten reversiblen Reaktionen und den Vorgängen bei Antitoxinwirkung auf Toxin bestehen. Vor allem ist nicht zu verkennen, daß, höchster Wahrscheinlichkeit nach, Gift und Gegengift sich zu einander wie Basen und Säuren verhalten. Aus der physikalischen Chemie ist nun bekannt, daß es vor allem die Reaktionen zwischen Säuren und Basen mit schwacher Affinität sind, die einen reversiblen Charakter haben und dem Guldberg-Wageschen Gesetz folgen. Andererseits haben Ehrlich und seine Mitarbeiter festgestellt, daß die Absättigung von Toxin durch seinen Antikörper sich durch die Existenz einer breiten intermediären Zone zwischen L_0 und L_+ auszeichnet, der Toxonzone; was auf den ersten Blick zu der Vermutung Anlaß geben könnte, daß die Giftneutralisierung unter gewissen Umständen unvollkommen sei und bliebe. Mehr noch: Arbeiten von Buchner[6]), von Roux und Vaillard[7]), Roux und Martin[8]) haben ergeben, daß Toxin-Antitoxingemische, die für eine Sorte von Versuchstieren biologisch neutral sind, für andere Tierarten oder geschwächte Exemplare derselben Spezies bedenklich werden können, was darauf hinzudeuten scheint, daß diese sogenannten „neutralen" Gemische es in Wirklichkeit gar nicht sind, trotzdem Antitoxin im Überschuß vorhanden ist.

Da ist es doch sehr wahrscheinlich, sagen Arrhenius und Madsen, daß Toxin und Antitoxin im selben Verhältnis zu einander stehen, wie eine schwache Säure zu einer ebensolchen Base, und daß die zwischen ihnen stattfindenden Reaktionen reversibel sind, also einen Zustand labilen Gleichgewichts bedingen.

Um dieser Vermutung eine experimentelle Grundlage zu geben und ihre Richtigkeit so weit als möglich zu beweisen, benutzen Arrhenius und Madsen eine Versuchsanordnung, die den Zweck hat, die Hämolyse unter dem Einfluß von Tetanolysin und Tetanusantilysin einerseits, andererseits von Ammoniak, als dessen Antikörper Borsäure gewählt wird, parallel zu untersuchen und festzustellen, ob nicht zwischen diesen beiden Prozessen gewisse Analogien bestehen. Nachdem sie letztere Frage in bejahendem

Sinne entschieden haben, versuchen sie die Besonderheiten der eigentlichen Antitoxinwirkung auf Grund derselben allgemeinen Gesetze und Prinzipien zu erklären, die die physikalische Chemie auf die gegenseitige Absättigung von NH_3 und $B(OH)_3$ anwendet.

2. Tetanolysin und Antitetanolysin.

Die Versuchsanordnung entspricht im großen ganzen der Methode der partiellen Sättigung. 2 ccm der 2 proz. Tetanolysinlösung werden mit n ccm Antilysin ($^1/_{400}$ Proz.) + (2 — n) ccm isotonischer Kochsalzlösung gemischt. Nimmt man als toxische Einheit (TE) 1 ccm einer 1 proz. Giftlösung an, so enthält die genannte Mischung eine solche TE pro Kubikzentimeter. Steigende Dosen solcher Mischungen mit verschiedenen Werten für n werden zu je 10 ccm einer 2,5 proz.. Erythrocytenaufschwemmung zugesetzt und dann die Menge x jeder einzelnen Mischung bestimmt, die gerade hinreicht, um den gewollten Teil (20 Proz.) der Blutlösung zu hämolysieren. Dieses x ist also die einfach toxische Dosis der verschiedenen Gemenge: m, m^1, m^2 m^3 . . . . und $\frac{m}{x}$ drückt den Gesamtgehalt an solchen Dosen oder die Giftigkeit (G) der Mischung m aus. Auf die Volumeinheit bezogen, ergibt sich für G die Formel

$$(1)\quad G = \frac{10 + x}{10\,x} \text{ oder } = \frac{1}{x} \cdot \frac{10 + x}{10}$$

Durch Einsetzen der für x aus dem Versuch gewonnenen Zahlen bei verschiedenen Werten von n in diese Formel (1), erhält man die beobachteten Werte für G der betreffenden Versuchsreihe.

Tabelle VI (nach Arrhenius und Madsen).

n	x beobachtet	G beobachtet
0	0,23	4,45
0,05	0,28	3,67
0,1	0,33	3,13
0,15	0,45	2,32
0,2	0,66	1,62
0,3	1,15	0,97
0,4	1,6	0,63
0,5	2,3	0,45
0,7	3,8	0,27
1,0	6,0	0,18
1,6	12,5	0,09
2,0	14,0	0,08

Diese Zahlen ergeben ein mit dem Steigen der Antitoxinmenge parallel laufendes Größerwerden der einfach hämolysieren-

den Dosis, während die Giftigkeit G ebenso abnimmt. Das konstante Verhältnis wird durch folgende Kurve ausgedrückt:

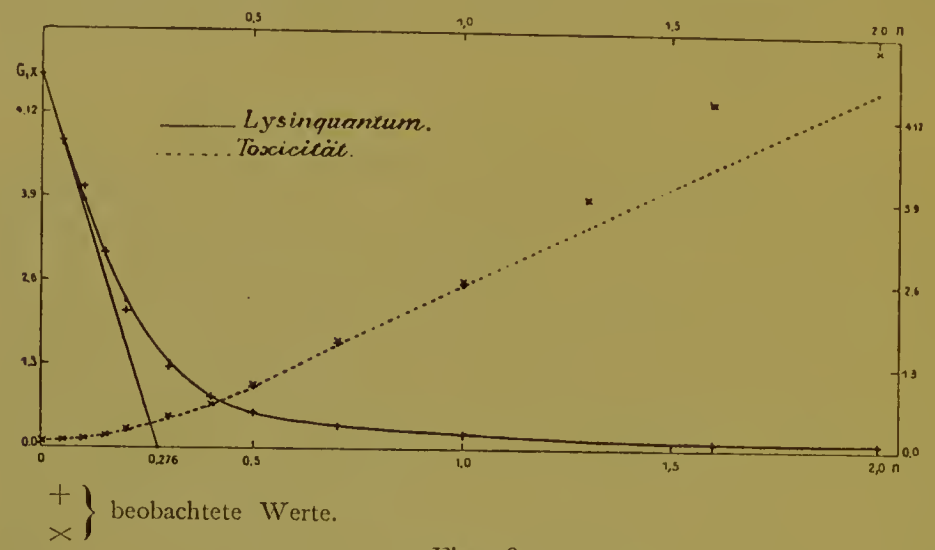


Fig. 18.
(Nach Arrhenius u. Madsen.)

Die Regelmäßigkeit dieser hyperbolischen, die verschiedenen Etappen der Bindung eines Bakteriengiftes durch seinen Antikörper darstellenden Linie ist nach Arrhenius und Madsen darin begründet, daß solche Absättigung mit Zuständen labilen Gleichgewichts zwischen einer teilweise dissoziierten Verbindung und ihren Dissoziationsprodukten vergleichbar ist. Sie sehen in der Neutralisierung eines Toxins durch sein Antitoxin einen ausgesprochen reversiblen Prozeß, dessen Verlauf mathematisch durch folgende Formel bestimmt wird:

$$(2)\quad \frac{\text{freies Toxin}}{\text{Volum}} \times \frac{\text{freies Antitoxin}}{\text{Volum}} = K \left(\frac{\text{Toxin-Antitoxin}}{\text{Volum}} \right)^2$$

wo **K** die Dissoziationskonstante ist. Arrhenius und Madsen stützen ihre Ansicht dadurch, daß sie mit Hilfe dieser Formel (2) für G Werte berechnen, die mit den empirisch gefundenen ziemlich genau übereinstimmen. Ein Vergleich der nachstehenden Zahlenreihe, die die berechneten Werte enthält, mit der Tab. VI zeigt dies zur Genüge.

Tabelle VII siehe p. 71.

Tatsächlich ist für bestimmte Strecken der Versuchsreihe eine auffallende Übereinstimmung in den Angaben der Tab. VI und VII nicht zu verkennen, was dafür zu sprechen scheint, daß die von Arrhenius und Madsen angegebene Formel richtig und die Reaktion zwischen Toxin uud Antitoxin in die Kategorie der reversiblen gehört, also dem gegenseitigen Verhalten schwacher

Tabelle VII (nach Arrhenius nnd Madsen).

n	x berechnet	G berechnet
0	0,23	4,45
0,05	0,28	3,67
0,1	0,35	2,95
0,15	0,46	2,29
0,2	0,62	1,72
0,3	1,05	1,03
0,4	1,64	0,62
0,5	2,21	0,46
0,7	3,7	0,28
1,0	5,9	0,18
1,6	10,2	0,11
2,0	13,3	0,09*)

Die direkte Beobachtung ergibt, daß K die Dissoziationskonstante = 0,115 und p (siehe die Fußnote) = 14,55 ist.

Basen und Säuren (Ammoniak und Borsäure) an die Seite zu stellen wäre. Aber wenn man die Zahlen in vergleicht, die das Ende das Absättigungsprozesses ausdrücken, fällt doch eine nicht unwesentliche Abweichung zwischen beobachteten und berechneten Werten ins Auge. Daraus wird man schließen dürfen, daß die Formel (2), wenigstens für die Endphase der Reaktionen, d. h. für diejenigen Mischungen, die schon beträchtliche Mengen Antikörper enthalten, nicht mehr anwendbar ist. Es sei angesichts dieser Tatsache gleich hier bemerkt**), daß diese Endstrecke der Kurve, welche die Bindung eines Toxins durch sein Antitoxin ausdrückt, mit der Ehrlichschen Toxonzone zusammenfällt. Daraus geht hervor, daß die von Arrhenius und Madsen vorgeschlagene auf der Dissoziierbarkeit des Produktes beruhende Auffassung der Wechselwirkung von Gift und Gegengift, das Bestehen dieser Endzone nicht erklärt, während gerade diese Zone es vorwiegend gewesen ist, die Ehrlich zu seiner Konzeption der komplexen Konstitution der Bakteriensekrete geführt hat.

Freilich haben Arrhenius und Madsen den Mangel an Übereinstimmung zwischen Beobachtungs- und Berechnungsresul-

*) Eine verhältnismäßig einfache Berechnung gestattet die Menge 1. freien Toxins, 2. freien Antitoxins, 3. der Verbindung beider zu bestimmen, vorausgesetzt, daß die hämolysierende Dosis des benutzten Tetanolysins und die Zahlen für n bekannt sind.

$$\underbrace{\frac{0{,}23}{10{,}23}}_{\text{freies Toxin}}\left[\frac{n}{4}\,p\,\underbrace{\frac{x}{10+x}-\left(\frac{x}{10+x}-\frac{0{,}23}{10{,}23}\right)}_{\text{freies Antitoxin}}\right]=K\underbrace{\left(\frac{x}{10+x}-\frac{0{,}23}{10{,}23}\right)^2}_{\text{Toxin-Antitoxin}},$$

wo p bedeutet, daß 1 ccm Antilysin p ccm der 1 % Giftlösung äquivalent ist.

**) Wir werden später ausführlich auf diesen Punkt zu sprechen kommen.

taten dadurch zu erklären versucht, daß sie annehmen, der Gleichgewichtszustand, zu dem die Reaktion hinstrebt, werde in antitoxinreichen Gemischen erst relativ spät erreicht, so daß das sehr fragile Hämolysin Zeit habe, sich abzuschwächen, wodurch dann die Berechnung kleinere Werte für x gibt. Dagegen läßt sich einwenden, daß die gleiche Abweichung des Kalküls vom Versuchsergebnis auch für solche Gifte festgestellt werden konnte, die, wie das Diphtherietoxin z. B., weit davon entfernt sind, auch nur annähernd so alterabel zu sein, wie das Tetanushämolysin. Hiervon wird später noch ausführlicher die Rede sein.

Nach dieser Formulierung der Bindungsgesetze von Bakteriengiften mit Antitoxinen, unternahmen Arrhenius und Madsen eine vergleichende Untersuchung der Antiwirkung von Borsäure auf das Hämolysierungsvermögen des Ammoniaks. Die Vorzüge dieser letzteren Versuchsanordnung liegen vor allem darin, daß p, das Antitoxinäquivalent des Giftes, mit anderen Worten die Menge $B(OH)_3$, die einer gegebenen Menge NH_3 entspricht, bekannt ist. Man wählt das Verhältnis so, daß auf ein Molekül Säure immer nur ein Molekül NH_3 entfällt, nach der Formel: $NH_4H_2O_3B$. Der Bindungsversuch wird in genau der gleichen Weise angestellt, wie es früher beschrieben worden ist, d. h. je einem Molekül NH_3 werden 0, $^1/_6$, $^1/_3$ . . $^2/_3$ . . . 2 Moleküle $B(OH)_3$ hinzugefügt und die Mischungen auf ihren hämolytischen Wert geprüft. Andererseits bedient man sich folgender Dissoziationsformel:

$$\frac{\text{freies } NH_3}{\text{Volum}} \times \frac{\text{freie } B(OH)_3}{\text{Volum}} = K \left(\frac{NH_4H_2O_3B}{\text{Volum}} \right)^2$$

zur Berechnung der Größen G und x. Nachstehende Tabelle und Kurve gestattet ohne weiteres die vollkommene Übereinstimmung der auf verschiedenem Wege gewonnenen Zahlen zu konstatieren:

Tabelle VIII (nach Arrhenius und Madsen).

n	x beobachtet	x berechnet	G beobachtet	G berechnet
0	0,17	(0,17)	6,0	6,0
$^1/_6$	0,20	0,22	5,1	4,7
$^2/_6$	0,25	0,27	4,1	3,8
$^4/_6$	0,40	0,42	2,6	2,5
$^6/_6$	0,70	0,66	1,51	1,62
$^8/_6$	0,90	0,99	1,21	1,10
$^{10}/_6$	1,50	1,43	0,77	0,79
$^{12}/_6$	2,0	2,0	0,60	0,60

Vergleicht man ihrerseits die für das Tetanolysin früher gefundenen Werte mit den soeben zitierten, so fällt sofort eine

markante Analogie zwischen hier und dort ins Auge: die beiden Prozesse unterscheiden sich tatsächlich nur durch den verschiedenen Wert von K (K-Tetanolys = 0,115, K-Ammoniak = 1,02). Somit erscheint die Neutralisierung eines Bakterientoxins durch den spezifischen Antikörper der Absättigung von Ammoniak durch Borsäure durchaus verwandt, da beide Vorgänge durch dasselbe Gesetz, das Guldberg-Wagesche Prinzip, beherrscht werden. Nach diesem Gesetze muß man annehmen, „daß aus einem Molekül Toxin und einem Molekül Antitoxin zwei Moleküle einer Toxin-Antitoxinverbindung entstehen“ (Arrhenius und Madsen).

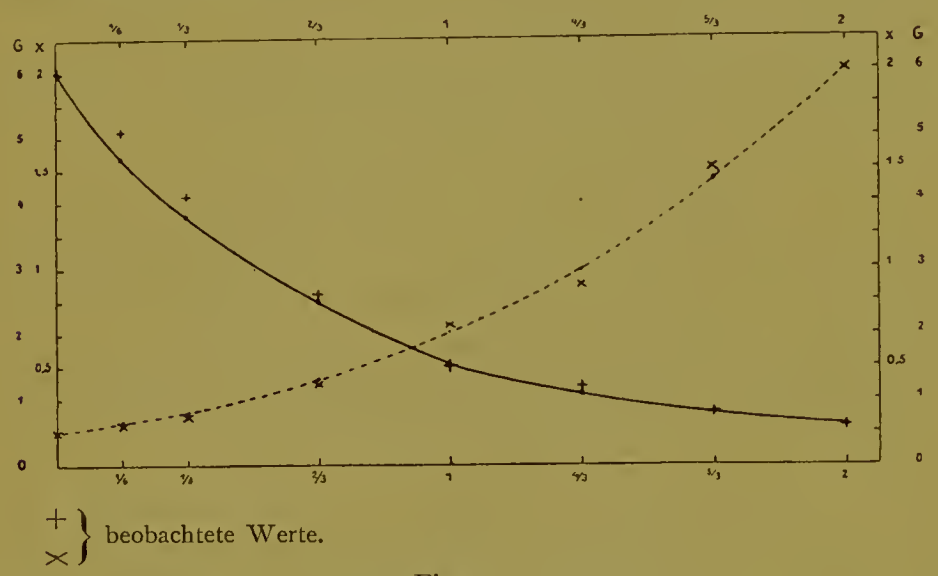


Fig. 19.
(Nach Arrhenius u. Madsen.)

Aus alledem sieht man, daß die letztgenannten Forscher in den Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin etwas viel Ein facheres sehen, als Ehrlich. Es genügt, wie sie sagen, anzunehmen, daß der Bindungsvorgang reversibel ist und demnach einen labilen Gleichgewichtszustand bedingt, um die Unregelmäßigkeiten in seinem Ablauf auch ohne Toxoide und Toxone zn erklären. Wenn Ehrlich gezwungen war, letztere Begriffe in die Immunitätslehre einzuführen, so geschah dies, weil er fortfährt, die Antitoxinwirkung mit der Bindung einer starken Base durch eine ebensolche Säure zu vergleichen. In diesem Falle erfordert allerdings das Gesetz der Multipla, daß die Kurve der Reaktion eine Gerade bilde, wie auch aus folgendem Beispiel, das die Neutralisierung der hämolytischen Wirkung einer nicht zu schwachen Base (NH_3) durch eine starke Säure (HCl) vorstellt, hervorgeht (Arrhenius und Madsen):

1 Äquivalent HCl + 1 Äquivalent NH_3 = Hämolyse 0
$^1/_2$ „ „ + „ „ „ „ $^1/_2$
$^1/_3$ „ „ + „ „ „ „ $^2/_3$
usw., bis zur vollständigen Hämolyse.

Im Gegensatz hierzu lehrt die Erfahrung, daß bei Toxin und Antitoxin der Sättigungsprozeß durchaus nicht nach diesem Schema verläuft, so daß man wirklich genötigt ist Toxoide und Toxoine einzuführen, wenn man darauf bestehen will, in jenen Stoffen Analoga starker Basen und Säuren zu sehen. Aber es genügt ja eben, nach der Ansicht des physikalisch-chemischen Lagers, die starke Affinität zwischen Toxin und Antitoxin in Gedanken herabzusetzen, um sofort die richtige Deutung für alle Besonderheiten des Reaktionstypus zu haben.

Mischt man z. B. ein Äquivalent NH_3 mit (n — 1) Äquivalent $B(OH)_3$, so gestattet die Gleichung:

$$^1/_n\left[(n-1)-\left(1-\frac{1}{n}\right)\right]=K\left(1-\frac{1}{n}\right)^2$$

den Schluß, daß stets $\frac{1}{n}$-Base ungesättigt zurückbleibt, wenn das Gleichgewicht erreicht ist. Folglich bleibt, wenn

1 Äquivalent $B(OH)_3$ auf 1 NH_3 wirkt, $^1/_2$ freies NH_3
2 „ „ „ „ 1 „ „ $^1/_3$ „ „
10 „ „ „ „ 1 „ „ $^1/_{11}$ „ „

Aus der hämolytischen Prüfung und spektralen Darstellung eines solchen Sättigungsprozesses möchte man schließen, daß:

1 $B(OH)_3$ neutralis. 50 % des Hämolysierungsvermögens v. 1 NH_3
2 „ „ 66,7 „ „ „ „ „ „
3 „ „ 75,0 „ „ „ „ „ „
4 „ „ 80 „ „ „ „ „ „

Mit anderen Worten:

das I. Äquivalent der Borsäure sättigt 50 % des Hämolysins
„ II. „ „ „ „ 16,7 „ „ „
„ III. „ „ „ „ 8,3 „ „ „
„ IV. „ „ „ „ 5,0 „ „ „

Die Analyse dieser Resulte zeigt, daß die erste Fraktion des Antikörpers die Hälfte des Hämolysins unschädlich macht, die letzte hingegen einen nur minimalen Teil derselben bindet. Das ist ein Befund, der jenen im V. Kapitel citierten Angaben von Madsen und Neißer-Wechsberg an die Seite zu stellen ist, nach welchen die ersten Dosen des Antikörpers gegen ein bakterielles Hämolysin procentualiter mehr Gift

in Beschlag nahmen, als spätere Portionen. Man wird sich auch erinnern, daß Madsen und Neisser-Wechsberg dies so erklärten, daß das Tetano- resp. Staphylolysin mehrere Komponenten enthielte, die verschiedenes Bindungsvermögen für das Immunserum hätten (Prototoxoide und Toxone). Wollte man nun, wenden Arrhenius und Madsen ein, dieselbe Erklärung auch für den ganz analogen Fall der Ammoniak-Borsäurereaktion gelten lassen, so hieße das dem hämolytischen Prinzip, also in diesem Falle dem NH_3, ebenfalls eine komplexe Konstitution zuschreiben. Es liegt auf der Hand, daß solche Überlegungen geeignet sind, den pluralistischen Standpunkt der Ehrlichschen Schule mindestens zu erschüttern.

Es soll jetzt nicht auf die schwachen Punkte der physikalisch-chemischen Toxinlehre eingegangen sein, die sich bei aufmerksamer Prüfung der Versuchsresultate und der von Arrhenius und Madsen an sie geknüpften Schlußfolgerungen ergeben, damit vielmehr gewartet werden, bis das gesamte vorliegende Material zu dieser Frage besprochen ist. Nur so viel sei schon jetzt gesagt, daß jener Einklang zwischen Berechnung und Beobachtung, der sozusagen die Seele und die Wurzel dieser Konzeption ist, nur für einen Teil des Bindungsprozesses besteht, und gerade für den, der uns verhältnismäßig wenig interessiert. Die Arrhenius-Madsensche Auffassung bleibt uns eben, wie schon erwähnt, die Deutung des eigentümlichen Verhaltens der Reaktion in ihrem Endstadium, das auch Ehrlich so viel Schwierigkeiten gemacht hatte, völlig schuldig. Dieser Mangel der Theorie an Erklärungsfähigkeit für experimentell sicherstehende Tatsachen bestätigt sich auch an den Untersuchungen von Madsen über Diphtheriegift, die wir nunmehr folgen lassen.

3. Diphtherietoxin und -antitoxin.

Die eingehende Analyse, der Madsen[9]) diese Stoffe unterwirft, stimmt hinsichtlich der angewandten Methode mit seinen früheren, in Gemeinschaft mit Arrhenius durchgeführten Untersuchungen über Tetanolysin völlig überein. Er geht von einem Diphtherietoxin aus, dessen anfängliche DL (= 0,0015) im Laufe eines Jahres beträchtlich gestiegen war (0,003), während die Neutralisationskonstante L_+ unverändert = 0,2 blieb. Mit diesem Toxin stellt Madsen Sättigungsversuche derart an, daß er zu je 0,1 Toxin n des spezifischen Serums mischt und dann x, die einfach tödliche Menge eines jeden Gemisches, sowie die Gesamtgiftigkeit G bestimmt. Zur theoretischen Berechnung dieser Werte dient die Formel:

(1) (freies Toxin) (freies Antitoxin) = K (Toxin-Antitoxin gebunden)^2.

Nachstehende Tabelle und Kurve lassen erkennen, inwiefern die gefundenen und die berechneten Zahlen für G und x übereinstimmen:

Tabelle IX (nach Madsen).
Februar bis März.

n	x beobachtet	G beobachtet	x berechnet	G berechnet
0	0,002	50	0,0015	66,67
0,05	0,002	50	0,00173	57,8
0,1	0,0022	45	0,00207	48
0,15	0,0022	40	0,0025	40
0,2	0,0033	30	0,0032	31
0,25	0,005	20	0,0044	22,9
0,3	0,0067	15	0,0066	15,3
0,35	0,01—0,012	10,8	0,011	9,1
0,4	0,017	6	0,019	5,3
0,45	0,013	3	0,03	3,4

Madsen schließt aus diesen Befunden, daß Diphtherietoxin und sein Immunkörper sich gegenseitig ebenso verhalten, wie Tetanolysin und Antilysin. Hier wie dort handelt es sich um eine reversible Reaktion, die zu einem Zustande labilen Gleichgewichtes der reagierenden Körper führt; woraus wiederum folgt, daß ganz unabhängig von der Menge des zugesetzten Antitoxins in jeder Mischung immer eine gewisse Menge Toxin frei bleibt. Fügt man mehr Antitoxin hinzu, so wird andererseits eine gewisse Menge der fertigen Verbindung wieder in die primären Faktoren dissoziiert, so daß die Reaktion nie beendet, die Neutralisation des Toxins nie vollständig ist. Die pathogene Wirkung antitoxinreicher Gemische (aus der sogenannten Toxon-

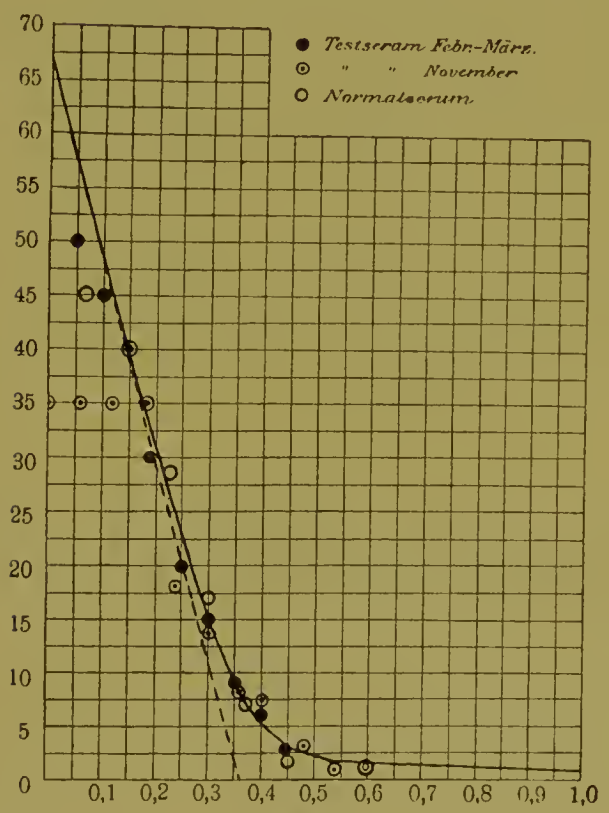


Fig. 20.
(Nach Madsen.)

zone) auf den Tierkörper ist also nach Madsens Ansicht lediglich als Effekt dieser kleinen freibleibenden Giftmengen aufzufassen*).

Besonders gegen diese letzere Schlußfolgerung läßt sich einwenden, daß es eben nicht angängig ist, Toxonwirkung und Wirkung untertödlicher Mengen frischen Toxins qualitativ als etwas Gleichartiges oder Identisches zu betrachten. Denn die Toxone erzeugen vorwiegend Lähmungen, was das reine Toxin meistenteils nicht tut. Madsen sagt sogar selbst, daß gewisse Gifte ihre von vornherein geringe Fähigkeit, paralysierend zu wirken, mit der Zeit ganz verlieren. Die Toxonwirkung ist aber für die betreffende Zone eines noch so abgeschwächten Toxins immer sehr deutlich nachweisbar.

Was jedoch ganz besonders gegen den exquisit simplizistischen Standpunkt Madsens spricht, ist der Umstand, daß im initialen Teil der Sättigungskurve die beobachtete Giftigkeit merklich geringer ist, als die berechnete. Hier, wie auch im Falle des Tetanolysins, kann man nicht umhin, diese Inkongruenz aus der Bildung von Prototoxoiden auf Kosten der Prototoxinmoleküle des Giftes zu erklären. Jedenfalls ist diese Deutung die plausibelste, die augenblicklich jenem auffallenden Umstande gerecht wird.

4. Ricin-Antiricin.

Neuerdings haben Madsen und Walbum[11]) in Untersuchungen über Ricin weitere Stützen für die unitaristische Auffassung gesucht. Sie betrachten in dieser Arbeit toxische und

*) In einer neueren Arbeit[10]) kommen Arrhenius und Madsen nochmals auf die Frage der Reversibilität von Diphtherietoxin-Antitoxingemischen zurück. Vor dieser letzteren Veröffentlichung sahen sie sich genötigt, trotz der Erklärung der Toxinwirkung durch kleinste Mengen dissoziierten Toxins, wenigstens die Existenz von Prototoxoiden in älteren Bouillonkulturen zuzugeben. Neuerdings lehnen sie es aber ab, diese Konzession zu machen, da sie, nach ihren Angaben, auf Grund einer neuen Berechnungsweise imstande sind, nachzuweisen, daß auch aus solchen Kulturen gewonnenes Toxin Antitoxin nach dem Guldberg-Wageschen Gesetz bindet, also keine Prototoxoide im Ehrlichschen Sinne enthält. Die neue Methode besteht, wenigstens zum Teil, darin, daß die tödliche Dosis nicht unmittelbar bestimmt, sondern aus dem Gewichtsverlust der Versuchstiere berechnet wird. Arrhenius und Madsen haben sogar eine Tabelle angegeben, die die DL aus der maximalen Ziffer dieses Verlustes unmittelbar abzulesen gestattet. Es ist wohl überflüssig, auf die mannigfachen Bedenken näher einzugehen, die einer Methode gegenüber auftauchen müssen, deren Zuverlässigkeit durch nichts erwiesen und a priori sehr zweifelhaft ist; man ziehe nur die allen Bakteriologen genugsam bekannten Schwankungen in der individuellen Resistenz der Laboratoriumstiere gegen Diphtheriegift in Betracht!

agglutinative Eigenschaften dieses Toxalbumins gesondert*), konstruieren einerseits die Absättigungskurve desselben durch Antiricin (Ziege); andererseits berechnen sie auf Grund der Formel: $\left(\frac{\text{freies Ricin}}{\text{Vol.}}\right)\left(\frac{\text{freies Antiricin}}{\text{Vol.}}\right) = K\left(\frac{\text{Ricin-Antiricin gebunden}}{\text{Vol.}}\right)^2$ die Werte x und G. Die Substitution der resp. Werte für freies und gebundenes Gift und Gegengift gibt folgende Gleichung

$$\frac{1}{G_0}\left[\left(n\,p\,\frac{1}{G}\right) - \left(\frac{1}{G} - \frac{1}{G_0}\right)\right] = K\left(\frac{1}{G} - \frac{1}{G_0}\right)^2$$

wo n die in jedem Gemisch enthaltene Antiricinmenge, G_0 die Giftigkeit eines Gemisches mit $n = o$ und G die reale Giftigkeit bei n gleich einer beliebigen Zahl ist. p bedeutet die einer IE äquivalente Ricinmenge. Die Formel gestattet p und K zu berechnen und auf Grund dessen den Verlauf der Sättigung graphisch darstellen.

Madsen und Walbum haben mit ein und demselben Gift zu verschiedenen Zeiten drei Reihen von Sättigungsversuchen angestellt. Die Resultate (für Agglutination) finden in den folgenden Zahlen und Kurve ihren Ausdruck.

I. Exp.: $K = 0{,}0537$ $p = 7{,}25$,
II. Exp.: $K = 0{,}0260$ $p = 2{,}9$,
III. Exp.: $K = 0{,}0142$ $p = 1{,}42$.

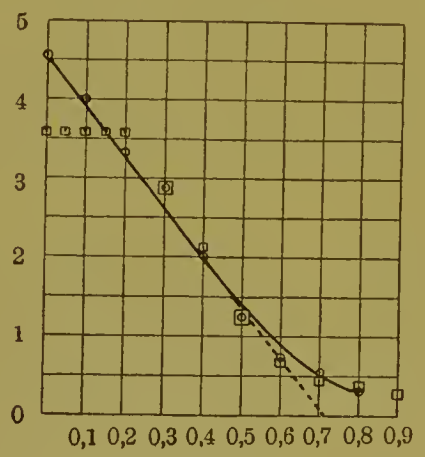


Fig. 21.
(Nach Madsen u. Walbum.)

Die Madsen-Walbumsche Formel ergibt demnach Zahlen, die mit den durch unmittelbare Beobachtung ge-

*) Wie Ehrlich und Sachs sehr richtig bemerken[12]), steht die von Madsen und Walbum versuchte Trennung des toxischen vom agglutinierenden Prinzip im Ricin im Widerspruch mit gewissen Versuchsresultaten Jacobys. Diese Versuche zeigen, daß die beiden Eigenschaften des Ricinmoleküls auf der Existenz zweier toxophorer Gruppen (einer eigentlich toxophoren und einer agglutinophoren) beruhen, die an eine gemeinschaftliche haptophore Gruppe gebunden sind.

wonnenen ziemlich genau übereinstimmen, und zwar gilt dies für die ganze Kurve mit Ausnahme des Anfangsteiles, wo die beobachtete Giftigkeit deutlich hinter der berechneten zurückbleibt. Wenn z. B. n = o ist, so ist x = 0,28*) und für alle Werte von n zwischen 0,05 und 0,2 bleibt x = 0,28 und erreicht den durch Berechnung geforderten Wert von 0,379 erst bei n = 0,3 (genauer 0,35). Daraus geht hervor, daß die ersten Fraktionen des Antiricins das Agglutinationsvermögen des Giftes nicht merkbar herabsetzen — eine Tatsache, die an Beobachtungen Ehrlichs hinsichtlich der Prototoxoide des Diphtheriegiftes erinnert. Die erwähnte Inkongruenz der Anfangsstrecken beider Kurven ist unverständlich, wenn man sich auf den streng unitaristischen Standpunkt stellt, hört aber auf es zu sein, wenn man annimmt, daß die ersten Portionen Antiricin der Giftmischung vor allem Prototoxoide entziehen, ungiftig gewordene Prototoxin (-Ricin) Moleküle, deren haptophore Gruppe, wie ihr Name besagt, einen erhöhten Bindungswert für den spezifischen Immunkörper besitzt.

Die Resultate, zu denen Madsen und Walbum im Laufe ihrer Untersuchungen über die Toxizität des Ricins gelangten, stimmen mit den eben referierten überein, wie folgende Kurve zeigt:

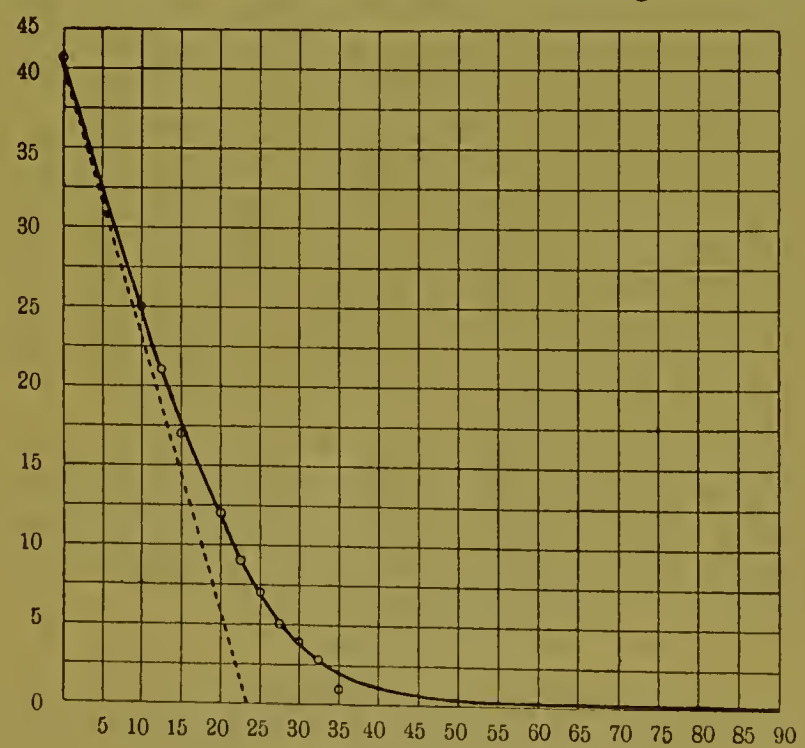


Fig. 22.
(Nach Madsen u. Walbum.)

Was beim Betrachten dieser Kurven besonders überrascht, ist die auffallende Ausdehnung der sogenannten Toxonzone. Die

*) Madsen und Walbum Tabelle IV, II, p. 247.

Toxin-Antitoxingemenge von $n = 35$ bis $n = 75$ sind für Meerschweinchen durchaus nicht indifferent: die Tiere bekommen lokale Ödeme, die spät auftreten und ohne Nekrosierung wieder zurückgehen. Das bestätigt die Befunde von Danysz und Jacoby, die beide für Ricin beträchtliche Unterschiede zwischen L_+ und L_0 fanden. Es wäre aber falsch, die durch derartige, zwischen den beiden Grenzwerten liegende Gemische hervorgerufenen pathologischen Veränderungen mit der Wirkung untertödlicher Dosen ($^1/_4$—$^1/_5$ DL) des reinen Giftes zu identifizieren. Denn wie Madsen und Walbum selber bemerken, hat die subkutane Injektion solcher Dosen stets starkes lokales Ödem mit konsekutiver Nekrose der Haut zur Folge — noch eine Schwierigkeit mehr, die pathogene Wirkungsweise antitoxinreicher Kombinationen auf dissoziiertes Toxin zurückzuführen.

Ehe wir an die kritische Sichtung der durch Arrhenius und seine Mitarbeiter beigebrachten Materials gehen, mögen noch einige Versuche dieses Forschers Erwähnung finden, die ebenfalls eine Anwendung physikalisch-chemischer Gesetze auf das Gebiet der Immunität bedeuten, aber nicht sowohl die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin, als andere biologisch aktive Körper zum Gegenstand haben, namentlich Agglutinine, hämolytische Ambozeptoren und Cobralysin (Hämolysin aus Schlangengift). Auch für diese Stoffe hat Arrhenius[12]) Formeln aufgestellt, deren Anwendung zu ganz übereinstimmenden Resultaten mit denen der unmittelbaren Beobachtung führt.

Seit den Untersuchungen Ehrlichs und seiner Mitarbeiter, Bordets etc., etc. weiß man, daß Agglutinine in elektiver Weise von der zur Herstellung benutzten Bakterienart gebunden werden. Eisenberg und Volk[13]) haben gefunden, daß die Verteilung des agglutinierenden Prinzips zwischen Bakterien und Reaktionsmedium nach einer festen Norm erfolgt. Arrhenius gibt nun an, daß dieses Verhältnis, wenn a die Gesamtmenge des auf eine gegebenen Masse von Bakterien wirkenden Agglutinins und x das an diese letzteren gebundene Agglutinin ist, durch folgende Gleichung ausgedrückt wird:

$$a = K(a - x)^{\frac{3}{3}}$$

$K = 19$ liefert die direkte Beobachtung, so daß man imstande ist, für jedes a das betreffende x zu bestimmen. Arrhenius tut dies und vergleicht die Resultate seiner Berechnung mit den Zahlen Eisenberg-Volks*).

*) Siehe Neisser, Centralbl. für Bakt., 1904, Bd. XXXIV, No. 5.

Tabelle X (nach Arrhenius).

a	x beobachtet	x berechnet
2	2	1,97
20	20	19,1
40	38	37,2
67	60	59,7
200	120 ?	173,0
2 000	1 300	1380
11 000	6 500	5749
20 000	10 000	9250

Wie man sieht, stimmen beide Zahlenreihen gut überein. Des weiteren haben Untersuchungen über spezifische (hämolytische) Ambozeptoren Arrhenius zur Aufstellung folgender Formel geführt:

$$(5\,A - H)\,(20\,B - H) = 90\,H$$

Hier sind A und B der spezif. Ambozeptor und sein Komplement, H — der Grad der erreichten Hämolyse, gleich dem Quadrat der wirksamen Hämolysinmenge

$$H = h^2$$

Diese Hämolysinmenge h, die aktiv wird, wenn man bestimmte Mengen Ambozeptor und Komplement (A und B) anwendet, ist die Unbekannte, die einerseits aus obiger Formel berechnet, andererseits durch den Versuch bestimmt werden kann. Die weitgehende Übereinstimmung der entsprechenden Zahlenwerte, zu denen Arrhenius sowohl für hämolytischen Immunambozeptor, wie auch für das Hämolysin des Kobragiftes*) gelangte, beweist, in wie hohem Grade die betreffenden Vorgänge bestimmten chemischen Gesetzen untergeordnet sind und sich in exakte Formeln bringen lassen.

Dies sind im wesentlichen die Ergebnisse der Bearbeitung, die die Toxinlehre durch Arrhenius und Madsen erfahren hat. Nachdem das Tatsachenmaterial berücksichtigt worden ist, erübrigt es uns, die Schlußfolgerungen eingehend zu beleuchten, zu denen die genannten Autoren sich berechtigt glauben.

*) In diesem letzteren Falle erfolgt, wenn man für einen Überschuß von Lecithin sorgt, das nach Untersuchungen von Kyes[14]) und Kyes und Sachs[15]) die Rolle des Komplements bei Schlangengift spielt, die Reaktion nach folgender Formel:

$$B\,(A - 1{,}5)\,\tfrac{2}{3} = 1{,}8\,h^2, = 1{,}8\,H,$$

wo B der Ambozeptor, A das Lecithin und h die wirksame Hämolysinmenge darstellt.

Literatur.

1) Arrhenius und Madsen, Physical chemistry applied to toxins and antitoxins, Copenhagen 1902; Zeitschr. für physik. Chemie, 1903, Bd. XLIV, Heft I, p. 7. — 2) Madsen u. Walbum, Acad. royale des sciences et des lettres de Danemark 1904, No. 6. — 3) Madsen u. Noguchi, idem, 1904, No. 6. — 4) Ostwald, Abrégé de chimie générale, Paris 1893. — 5) P. Chroustchoff, Introd. à l'étude des équilibres chimiques, Paris 1894, Masson. — 6) Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1893, p. 449 und Deutsche med. Wochenschr. 1894, p. 251. — 7) Roux u. Vaillard, Ann. Inst. Pasteur 1893, Tome VII, p. 64. — 8) Roux u. Martin, Ann. Inst. Pasteur 1894, Bd. VIII, p. 609. — 9) Madsen, Centralbl. für Bakt. 1903, Bd. XXXIV, No. 7. — 10) Arrhenius u. Madsen, Acad. Royale des sciences et des lettres de Danemark 1904, No. 4. — 11) Madsen u. Walbum, Acad. royale des sciences et des lettres de Danemark 1904, No. 3 und Centralbl. für Bakt. 1904, Bd. XXXIV, No. 2. — 12) Arrhenius, Anwendung der physik. Chemie auf die Serotherapie, Berlin 1904; Bull. de l'Inst. Pasteur, T. II, No. 13, p. 553; Revue générale des sciences 1904, No. 13, p. 633; Bull. de la Soc. chimique de Paris 1904, No. 13, p. 1. — 13) Eisenberg u. Volk, Zeitschr. für Hyg. 1902, p. 155. — 14) Kyes, Berl. klin. Wochenschr. 1902, No. 38, 39. — 15) Kyes u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1903, No. 2—4.

Zehntes Kapitel.

Die Schlußfolgerungen der physikalisch-chemischen Theorie.

Es sei nunmehr versucht, in großen Zügen die theoretische Auffassung des antitoxischen Bindungsprozesses wiederzugeben, wie sie sich für die Arrhenius-Madsensche Partei aus den citierten eigenen und fremden Arbeiten über Tetanolysin, Ammoniak, Diphtheriegift, Ricin und hämolytischem Ambozeptor ergeben hat.

Toxin und Antitoxin verhalten sich in dieser Auffassung wie schwache Basen zu schwachen Säuren, indem der Reaktionsprozeß zwischen jenen Körpern einen ausgesprochen reversiblen Charakter trägt. Ebenso wie eine erste gewisse Portion Borsäure, die man zu einer bestimmten Einheit NH_3 zusetzt, mehr davon neutralisiert, als die nachfolgenden gleichen Quanta, binden die ersten BE eines Antitoxins eine größere Menge des entsprechenden Giftes, als alle später zugefügten Bindungseinheiten. Aus der Reversibilität der Reaktion folgt die Notwendigkeit eines labilen Gleichgewichtszustandes derselben, wo zwei einander entgegengesetzte Prozesse sich die Wage halten. Unabhängig vom absoluten Quantum der reagierenden Körper sind, wenn dieser Gleichgewichtszustand einmal erreicht ist, stets neben dem Reaktionsprodukt kleinste Mengen der Komponenten frei in Lösung. Die Formel, nach der dieser Vorgang erfolgt, ist nach Arrhenius und Madsen folgende:

$$\left(\frac{\text{freies Toxin}}{\text{vol.}}\right) \cdot \left(\frac{\text{freies Antitoxin}}{\text{vol.}}\right) = K \left(\frac{\text{Toxin-Antitoxin}}{\text{vol.}}\right)^2$$

Jedes Gemisch von Toxin und Antitoxin, ob es nun als neutral gilt oder nicht, enthält also ein gewisses Quantum freien Toxins und freien Antitoxins. Unter diesen Umständen könnte die pathogene Wirkung der Toxonzone auf die Anwesenheit solcher minimaler Reste ungesättigten Toxins bezogen werden, so daß –

nach der hier wiederzugebenden Ansicht — keinerlei Notwendigkeit vorliegt, die Begriffe Toxone und Toxoide als Faktoren in das Erklärungsschema einzuführen.

Für die Reversibilität sprechen nach Arrhenius und Madsen besonders einwandfrei gewisse Versuche von Madsen und Walbum[1]), die anscheinend beweisen, daß die Verbindungen von Diphtherietoxin und -antitoxin und von Ricin und seinem Gegengift dissoziierbar sind.

Madsen und Walbum stellen Gemische beispielsweise von 0,005 g Ricin und 0,08 g Antiricinserum her und lassen sie bei 37° zwei Stunden stehen. Für Meerschweinchen ist eine solche Kombination bei subkutaner Impfung so gut wie wirkungslos. Behandelt man die Mischung aber mit einer bestimmten Menge von 10 proz. Kaninchenblut und zentrifugiert dann die Blutzellen wieder ab, so erhält man nunmehr eine ausgesprochen antitoxisch wirkende Flüssigkeit: sie verringert*) in hohem Maße den agglutinierenden Effekt einer reinen Ricinlösung und gibt mit einer Spur dieses Giftes einen deutlichen Niederschlag**). Andererseits läßt sich nachweisen, daß die so behandelten Erythrocyten Ricin absorbiert haben: löst man sie in destilliertem Wasser auf und injiziert die Lösung Meerschweinchen, so gehen dieselben nach drei Tagen ein, und zwar an Ricinvergiftung, denn der Zusatz von etwas Antiricin hindert oder verzögert den letalen Ausgang.

Dieser Versuch zeigt, wie dies schon früher von seiten Danysz' geschehen war, daß man imstande ist, neutrale Gemische von Ricin und Antiricin in ihre Komponenten zu zerlegen, das Gift durch agglutinierbare Erythrocyten zu binden und den Antikörper frei im Reaktionsmedium zu erhalten. Für Madsen und Walbum ist dies der Beweis der Dissoziierbarkeit von Ricin-Antiricinverbindungen, der Reversibilität der Reaktion.

In einer weiteren Versuchsreihe[2]) gehen die genannten Autoren von einer Mischung von 2 ccm Diphtherietoxin und 12 IE Immunserum aus, die als L_0 angesehen werden kann, da sie nicht pathogen ist. Eine gewisse Anzahl von Reagenzgläsern mit erstarrter Gelatine (10 Proz.) wird mit je 2 ccm dieser Giftlösung überschichtet und längere Zeit bei 2—3° stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit (66 Tage) wird der Gelatinezylinder aus dem Glas hervorgeholt, in einer isotonischen Lösung abgespült und in zwei Teile geteilt: eine obere Schicht a, von ca. $^1/_2$ cm Höhe, und

*) Diese Herabsetzung erreicht das Verhältnis $^1/_4$.

**) Bekanntermaßen bildet Antiricinserum mit seinem Antigen ein Präzipitat (Danysz).

eine untere — b. Letztere wird ihrerseits in gleiche Hälften b' und b'' zerlegt und dann durch das Tierexperiment die Giftigkeit dieser verschiedenen Schichten bestimmt. Nachstehend das Ergebnis eines solchen Versuches:

a + 0,0035 (= 1 DL)	Diphtherietoxin	↓	Meerschweinch.	250 g = O
b'		↓	„	„ „ = + in $4^1/_2$ Tagen
b'' + 400 IE	Antiserum	↓	„	250 g = O (Ödem)

Daraus erhellt, daß 1. die oberste Schicht a eine genügend große Menge disponiblen Antitoxins enthielt, um 1 DL zu neutralisieren; 2. die Hälfte der oberen Schicht ein 250 g-Tier in ca. 4 Tagen tötet, also mindestens 1 DL Toxin darin frei war, 3. diese Toxinmenge durch 400 IE Antidiphtherieserum neutralisiert wird. Das Gemisch über der Gelatine hat sich also, sagen Madsen und Walbum, dissoziiert, und da die Diffusionsgeschwindigkeit von Toxin etwa 15 mal größer ist, als die von Antitoxin [Arrhenius[2])], gelangte ersteres viel eher in die unteren Schichten der Gelatine. Das ist der schlagendste Beweis für die Reversibilität und Dissoziierbarkeit antitoxischer Gemische, der von deren Verteidigern ins Feld geführt wird.

Wir möchten bei dieser Gelegenheit in Erinnerung bringen, daß gewisse Versuche v. Behrings[3]) in derselben Richtung gedeutet werden könnten, wenngleich v. Behring selber sich dagegen verwahrt. Er mischte 4 ccm eines Tetanustoxins mit 0,2143 IE Antitoxin und füllte das Ganze auf 5 ccm auf. Gleiche Dosen verschieden starker Verdünnungen wurden Mäusen injiziert, wobei sich folgende überraschende Resultate herausstellen:

Maus	I	erhält	0,4	der	Stammlösung	= +	nach 88	Std.
„	II	„	$\frac{0,4}{25}$	„	„	= +	„ 60	„
„	III	„	$\frac{0,4}{250}$	„	„	= +	„ 48	„
„	IV	„	$\frac{0,4}{2500}$	„	„	= wird krank, geht aber nicht ein.		

Es lassen sich also durch entsprechend weitgehende Verdünnung wenig wirksame Gemische von Tetanustoxin und -antitoxin bedeutend aktiver machen, so daß ihre pathogene Wirkung eine ungleich ausgesprochenere wird als die der reinen unverdünnten Melange. Darin wollte man ein Analogon der Dissoziation von Salzen in ihre Ione in schwachen wässerigen

Lösungen setzen. Demnach würden in den oben beschriebenen Gemischen durch Dissoziation gewisse Mengen Toxin frei und dieser Zusatz bedingte die beobachtete erhebliche Abkürzung der Intoxikation, im Sinne einer Beschleunigung des exitus letalis.

Leider ist das bis jetzt nur Hypothese, deren einwandsfreie Begründung durch ausgedehntere Versuche noch aussteht*).

Wir gelangen nach alledem zu folgenden Sätzen, als Ausdruck der physikalisch-chemischen Betrachtungsweise: Toxin und Antitoxin verbinden sich untereinander insofern nach der Art schwacher Basen und Säuren, als die fraglichen Reaktionen reversibel sind und zu einem Zustand labilen Gleichgewichts führen. Der reversible Charakter der Reaktion erklärt alle von Ehrlich u. A. festgestellten Unregelmäßigkeiten in ihrem Ablauf und läßt andererseits mit Notwendigkeit auf eine einfache Konstitution der Bakteriengifte schließen.

Die Reaktion befolgt das Guldberg-Wagesche Gesetz und daraus ergibt sich, „daß ein Molekül Toxin und ein Molekül Antitoxin zwei Moleküle einer neutralen Toxin-Antitoxinverbindung geben, welche Verbindung reversibel ist".

Literatur.

1) Madsen u. Walbum, Centralbl. für Bakt. 1904, Bd. XXXVI, No. 2. — 2) Idem. — 3) von Behring, Beiträge zur exp. Therapie, Heft 7, Berlin 1904, Hirschwald. — 4) Madsen, Acad. Royale des sciences et des lettres de Danemark 1905, No. 1.

*) Madsen hat neuerdings mit Botulismusgift[4]) und dessen Antikörper ähnliche Versuche und mit analogen Resultaten angestellt.

Elftes Kapitel.

Schlußbetrachtung.

Ein Blick auf das Gesamtbild der Arrhenius-Madsenschen Mitteilungen über das vorliegende Thema lehrt, daß auch diese Forscher, unter dem Eindruck einer gewissen Divergenz zwischen der Theorie, die sie vorschlagen, und ihren eigenen Versuchsresultaten, anscheinend genötigt sind, in manchen Punkten (Prototoxoide) der pluralistischen Auffassung Ehrlichs Rechnung zu tragen. Dafür kämpfen sie freilich an anderen Stellen um so hartnäckiger und gestützt auf eine Fülle von Argumenten gegen diese Auffassung. Aber eine aufmerksame Durchsicht dieser Argumente zeigt, daß sie nicht Anspruch darauf machen können, absolut beweiskräftig und überzeugend zu sein.

Eines der wichtigsten Beweisstücke dieser Art ist für Arrhenius und Madsen die Tatsache, daß die Reaktionskurve keine Gerade ist, wie es der Fall sein müßte, wenn Toxin und Antitoxin undissoziierbare Verbindungen, nach Art der Salzbildung aus starken Basen und Säuren, eingingen, sondern eine Hyperbel. Da entsteht die Frage, ob man berechtigt ist, auf Grund dessen allein den Vorgang seinem Charakter nach als identisch mit der Sättigung von Borsäure durch Ammoniak zu erklären, die, graphisch ausgedrückt, ebenfalls eine Hyperbel ist? Wäre es nicht möglich, daß die Abweichung von der Geraden auch dann eintritt, wenn eine starke Säure auf ein Gemisch zweier gleich starker, aber ihrem spez. Charakter nach verschiedener Basen reagiert? Letztere Frage wird von Ehrlich[1]) in einer seiner neuesten Veröffentlichungen durchaus bejaht, und zwar auf folgender Grundlage. Nehmen wir an, ein beliebiges Alkaloïd A wirke als Base hämolytisch, als Salz aber nicht; ein anderes — B, sei sowohl als Base wie auch als Salz unfähig, Erythrocyten anzugreifen. [Nach dem an früherer Stelle Gesagten kann B als toxoidale Modifikation von A gelten, während die Säure, die mit beiden Basen inaktive Salze bildet, die Rolle des Antitoxins spielt.] Die Neutrali-

sation einer dieser Basen allein, z. B. A, durch Salzsäure, würde natürlich eine Gerade ergeben und das Gesetz der Multipla befolgen. Es ist aber nicht ohne weiteres gesagt, daß dies auch der Fall ist, wenn die Salzsäure auf ein Gemisch von beispielsweise $\frac{\alpha}{2}$ Molekül A und $\frac{\beta}{2}$ Molekül B oder $\frac{\alpha}{4}$ A $+$ $\frac{3\beta}{4}$ B wirkt. Ehrlich hat nach der Jolletschen Sättigungsformel für Chinin und Codeïn (durch Salzsäure) ausgerechnet, daß die Neutralisationskurve in diesem Falle von der Geraden mehr oder weniger abweicht. Tatsächlich ergibt auch ein mit einer Mischung von 100 Mol. Chinin $+$ 100 Mol. Codeïn und HCl durchgeführter Sättigungsversuch, daß das erste $\frac{1}{10}$ Mol. Säure 13 Mol. Chinin bindet, das letzte nur 7 Mol. Woraus mit bezug auf die uns bekannte Erscheinung, daß nämlich initiale Dosen eines Antikörpers, die dem entsprechenden Gift zugesetzt werden, mehr davon in Beschlag nehmen als spätere, der Schluß gezogen werden kann, daß dies, ebenso gut wie durch Dissoziationsvorgänge, auch durch Komplexität der reagierenden Körper sich erklärt. Es ist daher nicht angängig, aus der Reaktionskurve allein, wie sie uns die graphische Methode liefert, auf die einfache oder komplexe Natur der betreffenden Substanzen zu schließen.

Auch unter dem Gesichtswinkel der Prototoxoide und Toxone erscheint die Arrhenius-Madsensche Theorie wenig begründet. Ehrlich und seine Schule haben in unzweifelhafter Weise dargetan, daß Bakterientoxine mit der Zeit an Giftigkeit einbüßen, ohne ihr Neutralisationsvermögen für spezifisches Antitoxin wesentlich zu ändern. Die Erklärung hierfür liegt in der Annahme, daß im Laufe des Abschwächungsprozesses die toxophoren Gruppen eines Teils der Toxinmoleküle zugrunde gehen, während die haptophoren erhalten bleiben, daß also auf Rechnung des Toxins Toxoide entstehen. Es muß nun betont werden, daß, wie bestechend der Gedanke der Dissoziierbarkeit toxisch-antitoxischer Verbindungen auch an sich sein möge, er für die Deutung jenes eben erwähnten Phänomens absolut unzureichend ist. Man bemerkt dies am deutlichsten, wenn man sieht, wie Arrhenius und Madsen selbst auf die Ehrlichschen Prototoxoide zurückgreifen, um die unzählige Male festgestellte Divergenz zwischen den beobachteten und den berechneten Werten im Initialstadium der Reaktion zu interpretieren*). Und im selben Sinne äußert sich

*) Arrhenius leugnet in jüngster Zeit auf Grund seiner neuen Art der Berechnung die Existenz der Prototoxoide. Wie wir aber gesehen haben, ist diese Methode wegen der vielen unkontrollierbaren Fehlerquellen nicht ganz einwandfrei (p. 77, Fußnote).

Arrhenius bei Besprechung der Schwankungen der Dissoziationskonstante K unter dem Einfluß der Giftabschwächung: »Après 17 mois (1902—1903) ce poison avait baissé de moitié. Il n'en avait pas moins conservé le même pouvoir fixateur vis à vis de l'antitoxine, et la valeur de K était devenue presque constante. Pour expliquer ce phénomène, nous avons admis, Madsen et moi, d'après Ehrlich, que ce poison s'était transformé peu à peu en une modification inoffensive (syntoxoide), possédant la même affinité pour l'antitoxine et la même constante d'équilibre que le poison initial«[2]). Damit gibt Arrhenius die Umwandlung von Toxin in Toxoide zu und nähert sich so beträchtlich der pluralistischen Konzeption Ehrlichs.

Auch die Hypothese, nach welcher die spezifischen Eigenschaften antitoxinreicher Kombinationen, der sogenannten Toxonzone, nicht auf die Wirkung eines besonderen toxischen Prinzips, sondern auf minimale Reste freien Toxins zurückzuführen wären, ist nur mit großer Reserve aufzunehmen. Ob es sich dabei um Diphtheriegift handelt, um Tetanolysin oder Ricin — die viel Antitoxin enthaltenden Gemische rufen stets Veränderungen hervor, die nach Madsens eigenem Urteil von den durch untertödliche Giftdosen bedingten irgendwie abweichen. Freilich hat Madsen, um das zu erklären, die Vermutung aufgestellt, daß der relativ bedeutende Überschuß des gleichzeitig mit dem Gift eingeführten Antitoxins es sei, der gewisse Unterschiede in der Absorption herbeiführe und so den Krankheitseffekt auch qualitativ beeinflusse. Aber das ist eben eine bloße Vermutung, die noch ihrer experimentellen Prüfung harrt und die andererseits mit gewissen Beobachtungen von Morgenroth[3]) im Widerspruch steht, die dieser Autor bei Injektion von Toxin-Antitoxingemischen in den Kreislauf gemacht hat, auf die aber hier nicht näher eingegangen werden kann.

Einige Forscher, u. a. Behring[4]), glaubten die Existenz von Toxonen auf Grund der Tatsache anzweifeln zu müssen, daß bei subkutaner Injektion von untertödlichen Dosen reinen Diphtherietoxins ebenfalls häufig Lähmungen auftreten. Dieser Einwand ist nicht stichhaltig. Wenn man den Begriff der Toxone so faßt, wie Ehrlich ihn aufgestellt hat, muß man ja von vornherein annehmen, daß sie gleichzeitig mit dem eigentlichen Toxin sezerniert werden. Jede Diphtheriebouillon enthält demnach eine gewisse Menge von Toxonen, und die pathogene Wirkung ist die Resultante der beiden Giftarten. Ist nun eine Kultur besonders reich an Toxonen, so kann das Filtrat, wenn es in nichttödlichen Mengen ins Unter-

hautzellgewebe des Versuchstieres gelangt, wie man leicht einsehen wird, sehr wohl Lähmungserscheinungen hervorrufen (Ehrlich und Sachs). Unlängst zur Veröffentlichung gelangte Versuche von Calcar [5]) scheinen übrigens den direkten Nachweis für die Existenz von Toxonen erbracht zu haben.

Calcar läßt Diphtherietoxin durch eine elastische Membran unter Druck dialysieren und untersucht in gewissen Zeitabschnitten sowohl das Dialysat, wie auch die dialysierende Flüssigkeit selbst auf ihren resp. Gehalt an Toxin und Toxon*). Er konstatiert, daß es möglich ist, die untersuchte Flüssigkeit von Toxin zu befreien, während der nachweisbare Gehalt an Toxonen derselbe bleibt. Er schließt hieraus, daß die Toxonmoleküle bedeutend langsamer die Membran passieren, als die Moleküle des Toxins, also größer sind als letztere. Man sieht, daß diese Angaben durchaus zugunsten der selbständigen Existenz lähmungserzeugender Toxone sprechen**).

Was die wichtige Frage der Dissoziierbarkeit von Toxin-Antitoxinverbindungen anlangt, so stützen sich Madsen und Arrhenius hierin zur Begründung ihrer Ansicht in erster Linie auf die Versuche von Madsen und Walbum über die Trennung von Diphtheriegift und Ricin von ihren respektiven Antikörpern mittelst Gelatine und roter Blutkörperchen; in zweiter Linie folgt als Beweis die Reversibilität von Toxin-Antitoxinreaktionen im allgemeinen.

Ad 1 ist zu bemerken, daß die Madsen-Walbumschen Versuche nur beweisen, daß es möglich ist, in neutralen Gemischen das Toxin vom Antitoxin zu scheiden — eine Tatsache, die schon seit den Untersuchungen von Danysz mit Ricin-Antiricin und Magensaft bekannt war. Aber wo liegt denn der Beweis dafür, daß es sich dabei um eine Trennung oder richtiger Sprengung der Verbindung, des neutralen Produktes handelt? Im Gegenteil, aus der Arbeit von Madsen und Wal-

*) Durch einfache subkutane Injektion, ohne jeden Zusatz von Antitoxin.

**) Die Calcarschen Versuche sind neuerdings von Römer [6]) im Behringschen Institut nachgeprüft worden, ohne daß ihre Resultate bestätigt werden konnten. Andererseits haben wir persönlich, in Gemeinschaft mit Danysz, Gemische von Diphtherietoxin und Antitoxin zwischen L0 und L+ durch Kollodiumsäckchen dialysiert. Obgleich Toxin äußerst schnell die Membran passiert, Antitoxin dagegen sehr lange zurückbleibt, haben wir vom Dialysat stets nur Toxonwirkung gesehen. Und doch hätte bei der angewandten Menge der Verbindung (das 10fache einer zwischen L0 und L+ liegenden Dosis) wenigstens eine DL ins Dialysat gelangen müssen, wenn, wie Arrhenius und Madsen es wollen, die Toxonwirkung auf kleinen Mengen dissoziierten Toxins beruhte.

bum geht hervor, daß der Versuch nur dann gelingt, wenn das Gemisch unmittelbar nach seiner Herstellung auf die Gelatine gebracht wird, und daß, wenn dies erst nach einiger Zeit geschieht, von einer getrennten Diffusion des Toxins nichts mehr zu bemerken ist. Da (nach Martin und Cherry) Gift und Gegengift eine gewisse Zeit zu ihrer vollständigen gegenseitigen Bindung brauchen, so erscheint es mehr als wahrscheinlich, daß unter den von Madsen und Walbum eingehaltenen Bedingungen ein großer Teil des Toxins noch gar nicht in Reaktion getreten war und die in die tieferen Schichten hineindiffundierten Giftmengen lediglich aus dieser Quelle und nicht von dem durch Dissoziation der Verbindung wieder freigewordenen Toxin stammten. Dies ist der schwache Punkt der Madsen-Walbumschen Untersuchungen.

Ad 2, die Reversibilität der Reaktion, haben Danysz und nach ihm v. Dungern und Sachs gezeigt, daß die toxisch-antitoxischen Bindungsvorgänge bei weitem nicht alle Forderungen erfüllen, die das Umkehrbarkeitsprinzip stellt. Die Einwände der zuletzt genannten drei Autoren sind in der Hauptsache folgende:

Die physikalische Chemie lehrt, daß es für jede reversible Reaktion einen Zustand labilen Gleichgewichts gibt, der erreicht wird, wenn die beiden einander entgegengesetzten Reaktionsprozesse sich die Wage halten. Bei der Bildung von Äthylacetat aus Äthylalkohol und Essigsäure

$$CH_3COOH + C_2H_5OH \rightleftarrows CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O$$

z. B. tritt ein solcher Zustand dann ein, wenn ein ganz bestimmter Teil der gesamten reagierenden Masse (ungefähr zwei Drittel) die Verbindung eingegangen ist, und es sei hervorgehoben, daß dieser Zeitpunkt unabhängig davon ist, ob man die Säure auf einmal oder fraktioniert in die Reaktion einführt.

Ist der Bindungsprozeß zwischen Toxin und Antitoxin tatsächlich ein reversibler Vorgang, so muß eine Regel, die sich auf alle bekannten reversiblen Reaktionen bezieht, auch für ihn Geltung haben. Dies ist aber, wie wir gleich sehen werden, nicht der Fall.

Das Gleichgewicht der Reaktion wird für die Neutralisierung von Toxin mit Antitoxin durch die Neutralisationskonstanten L_0 und L_+ bestimmt. Nach dem eben Gesagten müßte es für die Größe dieser Werte ganz gleichgültig sein, ob man die Menge Toxin, die mit einer IE L_+ gibt, ungeteilt oder fraktioniert

zusetzt. Eben so zahlreiche wie überzeugende Versuche von Danysz und Dungern zeigen indessen, daß in letzterem Fall, d. h. wenn man das Toxin in Fraktionen wirken läßt, so daß zu der einen IE zuerst ein Teil der Menge L_+ (= gewöhnlich L_0) und erst 24 Stunden später der Rest gemischt werden, der Wert für L_+ merklich sinkt. Beispiel:

Konstante

Ricin [Danysz[7])]

$$\left.\begin{array}{l} DL = 0{,}005 \\ L_0 = 0{,}15\ R + 0{,}1\ A = 30\ DL \\ L_+ = 0{,}40\ R + 0{,}1\ A = 80\ DL \end{array}\right\}$$

$D = 50\ DL$

Es sei zu 0,2 ccm Antiricin eine gewisse Menge Ricin einerseits im ganzen (a), andererseits in zwei oder mehreren Portionen (b) zugesetzt und jedesmal der Wert für L_+ bestimmt:

a	b
$0{,}2\ A + 0{,}14\ R = L_0 = 28\ DL$	$0{,}2\ A + 0{,}14\ R = L_0 = 28\ DL$
$0{,}2\ A + 0{,}24\ R = L_+ = 48\ DL$	$0{,}2\ A + (0{,}14 + 0{,}02)\ R = L_+ = 32\ DL$
$D = 20\ DL$	$D = 4\ DL$

Diphtherietoxin [v. Dungern[8])]

$$\left.\begin{array}{l} L_+ = 0{,}78 \text{ ccm T (einm. Zusatz)} \\ L_0 = 0{,}6 \quad \text{„} \quad \text{„} \end{array}\right\}$$

Fraktionierter Zusatz.

Beträgt die erste Portion:

0,60	ccm	T,	so	wird	L_+	= 0,67 ·		ccm
0,50	„	„	„	„	„	= 0,64—0,65		„
0,35	„	„	„	„	„	= 0,62—0,615		„
0,20	„	„	„	„	„	= 0,59		„
0,10	„	„	„	„	„	= 0,6		„
0,10	„	„	„	„	„	= 0,63		„
0,05	„	„	„	„	„	= 0,68—0,69		„

Diese Angaben zeigen, daß, wenn man zu einer IE des spezifischen Serums Toxin **portionenweise** hinzufügt, das Reaktionsgleichgewicht deutlich beeinflußt wird, und zwar in dem Sinne, daß die Giftigkeit des Gemisches eine bedeutend größere ist, als bei Zusatz derselben Toxinmenge im ganzen, welche Erhöhung durch Kleinerwerden von L_+ zum Ausdruck gelangt.

Ähnliche Beobachtungen machte Sachs bei Versuchen mit Tetanolysin[9]), Staphylolysin und Labferment[10])*); ebense Pick und Schwoner[11]), die mit Diphtherietoxin arbeiteten**).

Stellt man dagegen analoge Untersuchungen mit Stoffen an, die unzweifelhaft reversible Verbindungen eingehen, so sieht man, wie schon weiter vorn bemerkt, niemals eine Beeinflussung des Gleichgewichts der Reaktion durch irgendwelche Änderungen in der Versuchsanordnung. Das ist eine feststehende Tatsache, die übrigens sehr leicht nachgeprüft werden kann. Wir haben das in Gemeinschaft mit Danysz an der Hämolyse durch Ammoniak-Borsäuregemische getan und konstatiert, daß die Fraktionierung der NH_3-Dosis den L_+-Wert absolut nicht beeinflußte. Letzterer hielt sich unveränderlich auf 1,4 cm · c, gleichgültig auf welche Weise und in welchem Zeitraume das NH_3 in die Reaktion eintrat***).

Man begreift leicht, welchen großen Unterschied zwischen reversiblen Reaktionen bekannter Ordnung und den antitoxischen Prozessen das Danysz-Dungernsche Phänomen bedeutet. Es wird damit unmöglich, beide Arten Vorgänge zu identifizieren, wie Madsen und Arrhenius es wollen, und die paradoxalen Eigentümlichkeiten der Toxinantitoxinreaktion auf Grund des Dissoziationsprinzips zu erklären.

Es fragt sich, welche Deutung man dem Danysz-Dungernschen Phänomen zu geben hat. v. Dungern und Sachs greifen auf die Ehrlichsche Lehre von der Komplexicität der Bakteriengifte zurück. Es genügt, sagen sie, sich das Diphtheriegift z. B. aus Toxin, Toxoiden und Toxonen bestehend zu denken, um eine Erklärung für den Einfluß des fraktionierten Zusatzes eines solchen Toxins für den Giftwert einer L_+-Mischung zu haben. Aus der Definition der Neutralisationskonstanten geht hervor, daß beim Übergang aus L_0 in L_+ die zu ersterem neu hinzukommenden Toxinäquivalente vor allem die an Antitoxin gebundenen Toxoid- und Toxonmoleküle aus dieser Verbindung verdrängen. (Das ist der Grund dafür, daß $L_+ - L_0 > 1\,DL$ ist.) Da es sehr

*) Das Danysz-Dungernsche Phänomen tritt nicht auf bei Bindungsversuchen mit Cobralysin (Sachs). Nach Kyes hat dieses Gift eine besonders starke Affinität für den spezifischen Antikörper.

**) Nach den Angaben dieser Autoren ist es für das Zustandekommen des fraglichen Phänomens durchaus nicht gleichgültig, was für Serum man zur Verfügung hat. Je reicher es an Antitoxin ist (toxolabile Sera, im Gegensatz zu toxostabilen), desto deutlicher sei der Ausschlag.

***) Diese Versuche sind noch nicht veröffentlicht.

wahrscheinlich ist, daß mit der Zeit die Bindung zwischen Körpern mit schwacher gegenseitiger Affinität, wie Toxoiden und Toxonen und Antitoxin, immer fester wird, so ist anzunehmen, sagen v. Dungern und Sachs, daß in der Zeit, die zwischen dem Zusatz der ersten Giftportion und der definitiven Komplettierung des Gemisches liegt, die Toxon- und Toxoidmoleküle entsprechende Mengen des Antikörpers so fest verankern, daß die zweite Dosis Toxin nicht mehr imstande ist, die Verbindung zu sprengen*). Daher bleibt relativ mehr freies Toxin in der Lösung, und der Grenzwert L_+ wird früher erreicht**), wie folgende Schema zeigen:

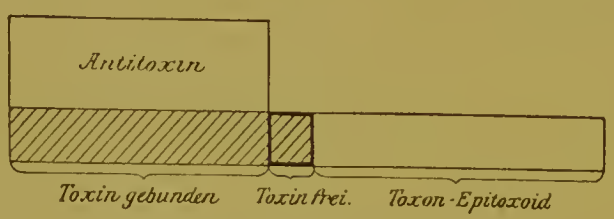


Fig. 23a (nach Sachs).

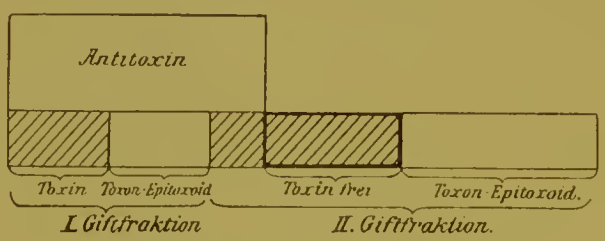


Fig. 23b (nach Sachs).

Die v. Dungern-Sachssche Erklärungsweise, die die Lösung der Frage in der Mitwirkung von Stoffen sieht, deren Affinität schwächer ist als die der Toxinmoleküle, deckt sich völlig mit der Ehrlichschen Theorie der Bakteriensekrete und ist, wenn sie nicht widerlegt wird, ein neues Argument mehr zugunsten dieser Theorie. Leider fehlt bis jetzt eine gründliche, eingehende Bearbeitung dieser speziellen Frage, so daß es verfrüht wäre, die Erklärung von Dungern und Sachs als die einzig mögliche oder richtige hinzustellen.

---

*) Diese Überlegungen haben v. Dungern[12]) zur Annahme von Epitoxonoiden geführt, unwirksamen Körpern, die von den Toxonen abstammen und eine schwächere Avidität für Antitoxin haben, als jene.

**) Arrhenius[13]) ist der Ansicht, daß das Danysz-Dungernsche Phänomen so zustande kommt, daß sekundäre Reaktionen unbekannter Natur in der langen Pause, die zwischen dem ersten und letzten Zusatz von Toxin liegt, sich abspielen und den wahren Gang des Prozesses verschleiern. Demgegenüber bemerken v. Dungern[14]) und Sachs, daß die Erscheinung auch auftritt, wenn jener Zeitabschnitt nur 2 Stunden beträgt, also auf ein Minimum abgekürzt wird.

Wie dem auch sei — eins geht aus alledem hervor, daß nämlich die Toxin-Antitoxinreaktionen mit den bisher als reversibel bekannten chemischen Prozessen keineswegs zusammengeworfen werden dürfen, da sie mit gewissen auffallenden Begleiterscheinungen verknüpft sind, die diesen abgehen. Die Arrhenius-Madsensche Theorie kann also, trotz ihrer großen Einfachheit und trotz vieler Überlegungen, die sie sehr plausibel erscheinen lassen, keinen Anspruch darauf machen, mit allen Tatsachen der Beobachtung in Einklang zu stehen und muß daher mit einem gewissen Vorbehalt aufgenommen werden *).

Zusammenfassung.

Die bisher beleuchteten Tatsachen und Theorien gestatten folgende Schlüsse auf das Wesen der Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin zu formulieren:

Diese beiden Stoffe beeinflussen sich gegenseitig, ohne sich zu zerstören, so, daß eine neue Verbindung beider entsteht, die weder pathogene noch neutralisierende Eigenschaften hat. Diese Vereinigung von Toxin und Antitoxin ist ein der Bildung von Salzen analoger Vorgang. Es scheint nicht, daß die Antitoxin-Toxinreaktionen das Massenwirkungsgesetz befolgen und reversibel sind, wie Arrhenius und Madsen es behaupten. Vielmehr liegt es nahe, anzunehmen, daß sie nach dem Proportionalitätsprinzip (Gesetz der Multipla) vor sich gehen und daß die scheinbaren Abweichungen von diesem Prinzip nur die unmittelbare Folge der komplexen Konstitution der Bakteriensekrete sind.

Diese komplexe Konstitution wird ihrerseits durch eine Fülle von Tatsachen, deren größter Teil hier besprochn worden ist, sehr wahrscheinlich. Sie bildet die Grundlage des Ehrlichschen Standpunktes und liefert für die allermeisten hierher gehörigen Erscheinungen eine befriedigende Erklärung. Man darf jedoch nicht aus dem Auge verlieren, daß diese Erklärung in gegenwärtiger Stunde nur eine sehr einleuchtende Hypothese und keineswegs unumstößliche Wahrheit ist. Es steht dem Gedanken nichts im Wege, daß eine dritte Auffassung entstünde, die, verschieden von den beiden bisherigen, berufen wäre, alles Material, das emsigster Forscherfleiß aus den Tiefen biologischen Geschehens zutage gefördert hat, in

*) Von physik. Chemikern spricht Nernst[15]) sich gegen die Arrhenius-Madsensche Betrachtungsweise aus. Er betont den willkürlichen Charakter ihrer Formeln und führt eine Anzahl experimenteller Tatsachen (u. A. Martin u. Cherry) an, die im Widerspruch mit der Theorie von Arrhenius u. Madsen stehen.

neuen Lichte erscheinen zu lassen. Wie erste aussichtsvolle Anfänge zu solcher Neubelebung der Toxinfrage muten die Bemühungen gewisser Untersucher an, die Diskussion auf das Gebiet der Colloide zu übertragen. Nernst und mit ihm Zangger[16]) Bilz, Much und Siebert[17]), Neißer und Friedmann[18]), Friedmann[19]), Landsteiner und Jagic[20]), Bechhold[21]) haben in der Tat versucht, die Toxin-Antitoxinreaktionen unter diesem Gesichtswinkel zu betrachten und zu diesem Zwecke eingehende Versuche angestellt. Nernst und Zangger z. B. sind der Ansicht, daß die Antitoxinwirkung aus zwei Phasen besteht, deren erste colloidaler Natur ist, während die zweite der Salzbildung analog erfolgt und somit zur Entstehung eines stabilen Produktes führt*).

Doch das sind alles noch Fragen im Stadium des Entstehens, Untersuchungen, die keinerlei bindende Schlüsse erlauben. Sie lassen aber jetzt schon erkennen, daß die Ehrlichsche Ansicht fruchtbringenden Modifikationen zugängig ist und daß die Antitoxinfrage, weit davon entfernt, abgeschlossen zu sein, für die Forschung der Zukunft noch offen steht.

Literatur.

1) Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1903, No. 35—37. — 2) Arrhenius, Bull. Inst. Pasteur Tome II, No. 13, p. 553. — 3) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschrift 1904, No. 20 u. Zeitschr. für Hyg. 1904, Bd. XLVIII. — 4) von Behring, Beiträge zur experim. Therapie, Heft 10. — 5) Calcar, Berliner klin. Wochenschr., Sept. 1904. — 6) Römer, Deutsche med. Wochenschr. 1905. — 7) Danysz, Ann. Inst. Pasteur, Mai 1902, Tome XVI. — 8) von Dungern, Deutsche med. Wochenschr. 1904, No. 8 u. 9 und Zeitschr. für Elektrochemie 1904, Bd. X, No. 40. — 9) Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1904, No. 16. — 10) Sachs, Centralbl. für Bakt. 1904, Bd. XXXVII, Heft 2. — 11) Pick u. Schwoner, Zeitschr. für exper. Pathologie und Therapie, Bd. I, Heft 1 und Wien. klin. Wochenschr. 1904, No. 40. — 12) von Dungern, siehe 8. — 13) Arrhenius, Zeitschr. für Elektrochemie 1904, Bd. X, No. 35. — 14) von Dungern, siehe 8. — 15) Nernst, Zeitschr. für Elektrochemie, Bd. X, No. 22. — 16) Zangger, Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte 1904, No. 3; Zeitschr. für Elektrochemie 1904, No. 35; Centralbl. für Bakt. 1905, Bd. XXXVI, No. 6, 7, 8 u. 9. — 17) Bilz, Much u. Siebert, in Berings Beiträge, Heft 10, p. 30. — 18) Neisser u. Friedmann, Münch. med. Wochenschr. 1903, No. 11 u. 1904, No. 19; Friedmann, Zeitschr. für klin. Med., Bd. LV. — 20) Landsteiner u. Jagic, Münch. med. Wochenschr. 1903, No. 18. — 21) Bechhold, Zeitschr. für physik. Chemie 1904, Bd. XLVIII, No. 4.

*) Auch Sachs gibt die Möglichkeit zu, daß der Prozess in zwei tempi vor sich gehe: zuerst ist die Reaktion relativ reversibel; auf diese Phase folgt eine zweite, die durch die Bildung der definitiven, imtimen Verbindung charakterisiert ist.

Ant. Kämpfe, Buchdruckerei, Jena.